UNIVERSITÉ DE LA POLYNÉSIE FRANÇAISE

ÉCOLE DOCTORALE DU PACIFIQUE

ED 469

IFREMER / RMPF

THÈSE

présentée et soutenue publiquement par

Maëva GOULAIS

le 12 Novembre 2024

en vue de l'obtention du titre de

Docteur de l'Université de la Polynésie française

Département : **Sciences**

Discipline : **Biologie des populations et écologie, CNU 67**

Spécialité : **Biologie marine**

RECHERCHE D'ESPECES BIOINDICATRICES DE LA POLLUTION PLASTIQUE DANS UN CONTEXTE PERLICOLE EN POLYNESIE FRANÇAISE

Sous la direction de : Denis SAULNIER et Chantal COMPERE

Et de l'encadrant scientifique : François GALGANI

JURY

Magalie BAUDRIMONT, Professeur, EPOC, Université de Bordeaux	Rapporteure
Paco BUSTAMANTE, Professeur, LIENs, CNRS-INEE	Rapporteur
Serge ANDREFOUËT, Directeur de recherche, Entropie, IRD	Examinateur
Nabila GAERTNER-MAZOUNI, Professeur, SeCoPol, UPF	Examinatrice
Fabien LOMBARD, Maitre de conférences, LOV, CNRS	Examinateur
Chantal COMPERE, Directrice scientifique, IFREMER	Co-Directrice de thèse
Denis SAULNIER, Cadre de recherche, SeCoPol, IFREMER	Directeur de thèse

FINANCEMENTS ET PARTENARIATS

Cette thèse est affiliée à l'Ecole Doctorale du Pacifique (ED 469) de l'Université de la Polynésie française (UPF). Ce travail a été réalisé au Centre Ifremer du Pacifique (CIP) basé à Vairao, à Tahiti, qui fait partie de l'Unité Mixte de Recherche Santé et services des écosystèmes polynésiens (UMR 241). Ce projet s'inscrit dans le projet « Microlag2 » cofinancé par la Direction des Ressources Marines (DRM) et l'Ifremer.

Plusieurs collaborations ont été réalisées à travers ce projet de thèse :

- La Direction des Ressources Marines (Polynésie française)
- Le Laboratoire Détection, Capteurs et Mesures (Ifremer Brest, France)
- Le Cedre (Brest, France)
- Génome Québec (Québec, Canada)
- Tahiti marine aquaculture (Papara, Tahiti)
- Tahiti marine products (Vairao, Tahiti)
- Centre technique et écloserie de production Vaia (Vairao, Tahiti)

PROLOGUE

Quand cette aventure a commencé il y a maintenant 3 ans et demi, je ne savais pas exactement dans quoi je m'embarquais. Si j'avais quelques conseils à donner à la Maëva vêtue d'une salopette (qui, au passage, lui donnait un air vaguement de Dora l'exploratrice reconvertie en mécanicienne automobile), qui a débarqué un beau matin de janvier à l'Ifremer complètement décalquée par le voyage et les chants nocturnes des 72 coqs (mes gènes sudistes grossissent à peine le trait) venus lui conter fleurette toute la nuit sous sa fenêtre, je lui dirais ceci : cette expérience va être intense. Quand on rentre à la maison après une dure journée, on ne peut pas éteindre son cerveau et le laisser sur le palier avec sa paire de savates préférées. Celui-ci ruminera toute la nuit et te réveillera parfois en sursaut parce qu'une idée sensationnelle (ou pas) jaillira de ta caboche : une nouvelle chose à essayer lors de ta prochaine expérience ou bien pour te demander si tu as bien rebranché cette pompe après avoir fait le changement d'eau de tes aquariums tout à l'heure... Parfois aussi, il faudra revenir le weekend juste pour t'assurer de l'état des petites larves que tu es en train de torturer avec tes mixtures de plastiques. Souvent, tu réaliseras qu'il y a eu un souci durant ton expérience et que tout est à refaire. En y repensant, je crois bien que rien n'a marché du premier coup. Il aura fallu refaire les tests une, deux, trois fois ou plus jusqu'à trouver le bon protocole. Et ça, cette persévérance, c'est ce dont tu seras la plus fière ! Car oui, si quelqu'un d'autre avait fait cette thèse, rien n'aurait été pareil. Cet autre aurait sûrement eu des idées différentes, peut-être meilleures, peut-être aurait-il été plus doué en bioinformatique, en statistique et aurait dompté RStudio en un claquement de clavier ! Mais avec toutes les déconvenues rencontrées, les changements d'expériences, les retards de livraisons, les problèmes durant les pontes d'animaux, les expériences avortées, les imprévus durant les missions, peut-être que cet autre ne se serait pas autant accroché et ne serait pas parvenu au bout de ce projet. En tout cas, j'espère que ce petit blabla égocentrique aura au moins pour mérite de (re)donner espoir aux thésard(e)s ou futur(e)s thésard(e)s qui tomberont sur ces quelques lignes. Malgré les déconvenues, notre plus grande force reste notre persévérance et personne ne pourra nous reprocher d'avoir essayé. Pour finir, la réalisation d'une thèse est une expérience aussi difficile qu'elle est enrichissante, aussi bien par le savoir que l'on y puise que par les rencontres qui jalonnent ce chemin. Alors accrochez-vous et au placard le syndrome de l'imposteur, malheureusement bien trop présent dans notre génération.

REMERCIEMENTS

Le point final de cette aventure de thèse est possible grâce à la participation des membres du jury qui ont tous répondu présents à cette invitation, et ce malgré des emplois du temps chargés. Certains d'entre vous sont même prêts à traverser le globe pour venir assister à la soutenance de ce travail. C'est pourquoi je tiens à tous vous remercier chaleureusement : Magalie BAUDRIMONT, Paco BUSTAMANTE, Serge ANDREFOUET, Nabila GAERTNER-MAZOUNI et Fabien LOMBARD, mille mercis pour le travail et l'investissement personnel que représente votre participation à ce jury de thèse.

Tout au long de ce travail, j'ai eu la chance de pouvoir compter sur le soutien sans faille de mon directeur de thèse, Denis. Je tiens à te remercier sincèrement pour ta bienveillance et ta joie de vivre à toute épreuve ! Pendant ces années de thèse, je crois qu'il n'y a pas eu une seule réunion durant laquelle nous n'avons pas rigolé. Pourtant, il y a eu des moments stressants, des déconvenues aussi, mais tu arrivais toujours à garder le sourire et à me redonner le mien. Pour l'encyclopédie scientifique et l'humain que tu es, je te dis un immense merci.

Merci également à Chantal, car malgré ton emploi du temps bien rempli, tu as su m'accueillir chaleureusement lors de ma venue à Brest. Le décalage horaire, les connexions défaillantes et les coqs qui s'invitaient régulièrement lors de nos visios n'ont pas facilité nos échanges, mais ces derniers étaient toujours pleins d'esprit et constructifs. Alors, je te remercie grandement pour ton accompagnement et la confiance que tu m'as accordée.

Quelle fut ma surprise lorsqu'en deuxième année, j'ai appris que j'allais avoir la chance de travailler avec Monsieur Galgani, alias l'homme cité dans toute ma bibliographie Mendeley ! Outre le scientifique accompli que tu es, j'ai réellement apprécié ton humilité et ta passion intarissable pour les sciences. Lors de nos échanges, ton optimisme et ta joie de vivre me reboostaient immédiatement ! Je te dis également un grand merci pour le savoir que tu as partagé avec moi, notamment lors des nombreux tests toxicologiques. J'aurai plaisir à continuer à écouter tes récits fantastiques lors de notre prochaine rencontre en Corse ou ailleurs ! Alors pour tout cela, merci François.

Ce travail a évidemment été possible grâce à mon accueil au Centre Ifremer du Pacifique. J'adresse un grand merci aux directeurs Philippe MOAL et Guillaume MITTA pour leur accueil et leur soutien tout au long de cette expérience. Merci Philippe d'avoir cédé à certaines de mes demandes, cela m'a grandement aidée dans l'achèvement de ce travail. Guillaume, merci également pour ton soutien et ton expertise scientifique, qui ont été fortement appréciés.

Je remercie la DRM, et plus particulièrement Vetea Liao, Thomas Trophime, Yann Follin, Marcelino et Tavi, qui m'ont énormément aidée pendant les missions et avec qui il était fort agréable de travailler. Un merci également à Marc-André Lafille et Mike Teissier, qui m'ont apporté leur savoir-faire lors des tests toxicologiques. Mention spéciale pour Mike, avec qui nous avons trié un à un des centaines d'œufs ! Ce travail aurait pu en hérisser plus d'un, mais pas lui, qui était toujours de bonne humeur et jovial.

Merci également aux agents de Tahiti Marine Products, qui m'ont fourni les larves d'holothuries essentielles à la réalisation des tests toxicologiques. C'était un réel plaisir d'échanger avec vous, tant pour votre gentillesse que pour votre expertise en aquaculture.

Je veux témoigner toute ma reconnaissance à Maria El Rakwe, Enora Prado et Léna Thomas, qui, lors de ma mission à l'Ifremer de Brest, m'ont accompagnée et aidée à l'analyse de mes échantillons. J'ai adoré travailler avec vous et toute l'équipe bienveillante du LCDM.

Un immense merci à tous mes collègues ifremeriens ! Sans être forcément intervenus directement dans la réalisation des expériences, les échanges avec vous à la machine à café, à la cantine, au détour d'un couloir, étaient toujours pertinents et agréables. Nous avons également eu la chance de pouvoir participer ensemble à plusieurs grands événements, qui ont permis de sceller un peu plus solidement les liens tissés entre nous. Alors, en espérant n'oublier personne, je tiens à adresser un gigantesque MERCI à Vaihiti (alias une super coéquipière de la team « Pahua », je retiendrai longtemps ta prestation qui aurait pu être récompensée par un oscar), Cristian (j'ai encore en mémoire les missions à Takapoto et les cours de français hasardeux que j'essayais de te donner, cela aura au moins eu le mérite de nous faire rire), un merci particulier pour Alain (qui m'a aiguillée dans le casse-tête des préparations des missions terrain et qui connaissait tous les bons plans de Takapoto et Takaroa), Julien (pour ton rire jovial et les réponses aux 12 548 questions que je t'ai posées), Nono (aka le super capitaine du centre ! Merci pour ton aide et ton savoir, les missions à Teahupoo pour aller chercher le sable et les

roches des aquariums restent un super souvenir), merci également à Erwan (l'ancien ! Compagnon de la première heure), Mathis (même si tu gagnes un peu trop aux cartes à mon goût), Tottoli (l'homme aux Crocs), Oriane (alias l'époustouflante Bobolène), Sophie (aka la truculente Dracolène !), aux Tintins (Justin et Martin), Mila, Esther, Carla, Thomas Camus, Jérémy Le Luyer, Simon, Yann, Stephen, Claude, Julie, Corinne, Charlotte, Caline, Manaarii, Lauriane, Heipua, Simone, Manuia, Destremeau (le plus patient de l'Ifremer !), Orama, René, Alex, Joan, Kali, Marcel….

Big up à tous les copains qui ont regagné la Métropole et que j'espère retrouver dès mon retour ! J'ai nommé Pierrot et Klervi, mes supers colocataires de bureau aussi étranges que sympathiques, Maelenn l'artiste aux mille talents, Laura la femme caméléon, c'est simple elle jongle aussi bien avec des torches enflammées qu'avec des données de métabarcoding, Thomas et Léo (les pirates chevelus), Irène (ma copine de rigolade), Lulu (Pua Roti !), Willos, Thibaud, Amel, Clémentine, Carlos, PE, Marion… Grâce à vous tous, mon séjour ici aura été rythmé par les aventures, les musiques entêtantes du Morrisson, les coupes de cheveux hurluberlues et surtout beaucoup de rires.

Mention spéciale au J, Chico, DJ-J, autant de pseudonymes pour une personne incroyable, j'ai nommé Jérémy. Tes nombreux cakes à la banane et ton rire si particulier (oui ça balance), ont mis des paillettes dans ma vie ces derniers mois. Pour tout cela et bien plus encore, merci à toi <3.

Si j'ai pu parvenir au bout de ce projet, c'est avant tout grâce à mes amis et ma famille dont les milliers de kilomètres nous séparant n'ont jamais altéré leur soutien. Certains ont même bravé les océans et les cieux pour venir me rendre visite ! Les moments passés avec eux étaient de véritables bouffées d'air frais et d'amour. Le plus grand merci du monde à Noémie, Richard, Charlotte, Juliette et Mathilde. Une pensée toute particulière pour les copains qui n'ont pas pu venir et que j'ai très hâte de retrouver : Chloé, Aurélien et toute la bande de joyeux lurons !

J'ai la chance d'avoir une grande famille soudée et aimante, alors muchas gracias à toute la Rico Dream Team et à la Goulais Family. Les trois choses qui m'ont le plus manqué étaient : vous, la paëlla et le couscous de papi et mamie !

Enfin, je tiens à adresser tout mon amour et ma reconnaissance à ma mère, mon père et ma petite sœur adorée. Je ne pourrai jamais écrire des mots assez forts pour vous exprimer à quel point votre amour et votre soutien m'ont porté tout au long de ce parcours. Vous êtes ma plus grande source de force et d'inspiration.

Votre soutien collectif a été un pilier, et pour cela, je vous en remercie infiniment.

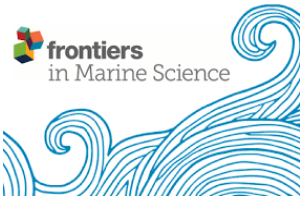
CONTRIBUTIONS SCIENTIFIQUES

ARTICLE PUBLIE



Goulais M., Saulnier D., Rouxel J. and Galgani F., 2024. Bioindicator species of plastic toxicity in tropical environments. *Science of the Total Environment*. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.176185

ARTICLE SOUMIS



Goulais M., Darinot-Thomas S., Mitta G., Galgani F., Saulnier D. and Benestan L., 2024. Plastic in the details: the impact of plastic pollution though a mesocosm experiment. *Frontiers in Marine Science*.

ARTICLE EN COURS



Goulais M., Saulnier D., Lo Yat A., Galgani F. and El Rakwe M. 2024. *In situ* assessment of the potential of pearl oysters, *Pinctada margaritifera*, as bioindicator species of plastic pollution. Marine Pollution Bulletin.

COMMUNICATIONS ORALES

Goulais, M., (2021) Impacts des microplastiques sur l'état de santé d'organismes récifaux et le recrutement larvaire : approche en mésocosme et *in situ.* Les Doctoriales 2021, 03 juin 2021, Université de la Polynésie française, Papeete, Polynésie française.

Goulais, M., (2022) Impacts des plastiques et microplastiques perlicoles sur l'état de santé d'organismes récifaux en Polynésie française. Les Doctoriales 2022, 05 mai 2022, Université de la Polynésie française, Papeete, Polynésie française.

Goulais, M., (2022) Impacts de la pollution plastique d'origine perlicole sur l'état de santé d'organismes marins en Polynésie française. Participation à un épisode de « Thèsez-vous ? », octobre 2022, série de vulgarisation scientifique de l'Ifremer, Vairao, Polynésie française.

Goulais, M., (2022) Impacts de la pollution plastique d'origine perlicole sur l'état de santé d'organismes marins en Polynésie française. Exercice de vulgarisation scientifique auprès de personnalités politiques et scientifiques locales à l'occasion des 50 ans du Centre Ifremer du Pacifique, octobre 2022, Vairao, Polynésie française.

Goulais, M., (2023) La pollution plastique en mer : impacts et solutions. Participation à un épisode des Kid Reporters sur le thème de la mer, mars 2023, série de vulgarisation scientifique à destination des enfants, Vairao, Polynésie française.

Goulais, M., (2023) Impacts de la pollution plastique d'origine perlicole sur l'état de santé d'organismes marins en Polynésie française. Les Doctoriales 2023, 10 mai 2023, Université de la Polynésie française, Papeete, Polynésie française.

Goulais, M., (2023) Impacts de la pollution plastique d'origine perlicole sur l'état de santé d'organismes marins en Polynésie française. Présentation des résultats de recherche auprès de perliculteurs à l'occasion du Conseil de la Perliculture, 04 octobre 2023, Vairao, Polynésie française.

Goulais, M., (2023) Impacts de la pollution plastique d'origine perlicole sur les organismes marins en Polynésie française. GDR Polymères et Oceans, 26 au 29 juin 2023, Campus de Beaulieu, salle de conférence de l'OSUR, Rennes, France.

Goulais, M., (2024), Interview pour le documentaire « Traquer le Plastique » diffuser sur Polynésie Première, Avril 2024, Vairao, Polynésie française.

Goulais, M., (2024), La pollution marine : Recherche de bioindicateurs adaptés au contexte perlicole en Polynésie française. Les Doctoriales 2024, 13 mai 2024, Université de la Polynésie française, Papeete, Polynésie française.

Goulais, M., (2024), La pollution marine : Impacts et recherche de bioindicateurs adaptés au contexte perlicole en Polynésie française. Les Doctoriales UMR SECOPOL 2024, 23 mai 2024, Université de la Polynésie française, Papeete, Polynésie française.

PRIX

Prix du meilleur poster STS 2021, Les Doctoriales 2021, 03 juin 2021, Université de la Polynésie française, Papeete, Polynésie française.

Encadrement d'étudiant

Ambre SAULNIER, étudiante en DUT Génie biologique option Génie de l'Environnement à IUT sénart Fontainbleau. Ambre a réalisé un stage du 03 mai au 30 juin 2022 au CIP. Le sujet était « La perliculture et les microplastiques : impacts sur l'huître perlière de Polynésie, *Pinctada margaritifera*. » Maitre de stage : Maëva Goulais.

Maelys Jouet, étudiante en Master 2 EIO de l'Université de la Polynésie française à Tahiti, Maélys a réalisé un stage du 15 janvier au 7 juin 2024 au CIP. Son sujet de stage était : « Evaluation de la qualité des sédiments et vulnérabilité des espèces marines tropicales en Polynéise française ». Encadrants : François Galgani, Alain Lo Yat et Maëva Goulais.

A ma famille et mes amis,

RESUME

Chatoyante et hypnotique, la renommée de la perle de culture polynésienne a depuis longtemps traversé les frontières du pays. En outre, ce secteur rapporte chaque année des milliards de francs Pacifique et représente la deuxième ressource économique de la Polynésie française. Cependant, dans les années 90, face à l'essor exponentiel des demandes, les perliculteurs ont délaissé les matériaux naturels au profit d'une matière plus résistante : le plastique. L'utilisation massive de plastiques, couplée à une gestion défaillante des déchets, a conduit peu à peu à l'amoncellement de quantités importantes de déchets dans les lagons perlicoles. En laboratoire, de précédentes études ont montré l'impact négatif des plastiques perlicoles sur les huîtres perlières, *Pinctada margaritifera*, et *in fine* sur les perles. À l'image d'un ouroboros, si aucune mesure n'est prise en conséquence, la perliculture pourrait bien précipiter sa propre chute. Afin de déterminer les seuils de pollution de plastiques perlicoles néfastes pour les écosystèmes marins tropicaux, nous avons imaginé plusieurs approches. Les expériences réalisées prenaient en compte à la fois les contraintes chimiques, biologiques et physiques induites par la présence de plastiques dans le milieu marin. Ainsi, nous avons développé des approches toxicologiques sur des espèces tropicales dont certaines n'avaient jusqu'alors pas été étudiées dans cette thématique. Nous avons également réalisé des expérimentations en mésocosmes afin de suivre les modifications induites par l'augmentation des concentrations de plastiques sur le compartiment bactérien. Enfin, nous avons évalué le potentiel de *Pinctada margaritifera* comme espèce bioindicatrice de l'état de contamination des lagons en microplastiques en suivant pendant plus de six mois 1 200 huîtres dans quatre atolls. L'ensemble de ces résultats nous a permis, dans un premier temps, de mettre en lumière les effets des plastiques sur des espèces tropicales peu étudiées ainsi que sur les bactéries marines, puis, dans un second temps, de proposer certaines de ces espèces comme des candidates bioindicatrices de la pollution plastique des milieux marins tropicaux.

ETAT DES CONTRIBUTIONS

Il faut être nombreux pour déplacer une montagne.

Ce travail n'aurait pas été possible sans l'aide et le soutien de nombreuses personnes. En raison de la nature collaborative et la pluralité des compétences nécessaires pour mener à bien ce projet, certaines des données présentées ont été acquises avec l'aide d'autres personnes. Ainsi toutes les expériences présentées dans cette thèse ont été conçues par mon directeur de thèse, Denis SAULNIER et moi-même mais nous avons également pu compter sur le soutiens logistique et intellectuel d'autres chercheurs et collègues. Dans ce qui suit, j'indique la contribution d'autres personnes aux données présentées par chapitre :

Chapitre 2 : L'expertise et le savoir de François GALGANI a été primordial pour l'établissement des protocoles utilisés lors des tests toxicologiques. J'ai également pu compter sur Julien ROUXEL qui m'a aidé sur la partie bioinformatique.

Chapitre 3 : La mise en place des neuf aquariums et l'entretien journalier que nécessitait ces installations, a été possible grâce au travail acharné et à la passion de Thibaud MEURILLON. Au départ de Thibaud, Baptiste FLEUROT a pris la relève et s'est avéré être d'une précieuse aide pour la suite du déroulement des expériences. Les nombreuses biométries, dissections et prélèvements réalisés à lors de l'expérience « mésocosmes » nécessitaient un travail synchronisé qui a été effectué avec l'aide de Maelenn LEROY, Caline BASSET, Thomas LEMAITRE, Erwan VIGOUROUX, Florent MARQUIS et Ameline ORTS. Le traitement en laboratoire des échantillons a été procédé essentiellement par Oriane CHEVALIER et Corinne FALCHETTO. L'analyse des données bioinformatiques a été possible grâce au savoir-faire de Sophie DARINOT-THOMAS et de Laura BENESTAN. Enfin, les idées émises par Guillaume MITTA et son appréciation

du sujet, nous ont également été d'une grande aide pour l'analyse et la valorisation des données acquises.

Chapitre 4 : Le projet « Huîtres Sentinelles » a nécessité 12 missions de terrains. Lors de ces mission une logistique importante étaient déployée afin de réaliser le nettoyage puis une biométrie complète des 1 200 huîtres déployées ainsi que les dissections. Cette épopée a été rendue possible grâce à l'aide précieuse que m'a apporté Tavi TEHEI, Marcelino (DRM- Takapoto), Alain LO YAT, Cristian MONACO, Yann FOLLIN, Vetea LIAO, Thomas TROPHIME, Ific SCULLER, Mélis THIRIET, Amélie BRIANDY, Thibaud MEURILLON et Maelenn LEROY. J'ai également pu compter sur l'aide de Caline BASSET et d'Ambre SAULNIER pour réaliser une partie de la quantification du glycogène musculaire des huîtres de l'étude. La quantification et l'identification des particules retrouvés dans nos échantillons ont été réalisé au centre de l'Ifremer de Brest au sein de l'équipe du LDCM. Sur place, Enora PRADO, Léna THOMAS et Maria El RAKWE m'ont grandement aidé et formé à l'analyse des particules par spectrométrie RAMAN.

TABLE DES MATIERES

Figures (hors publications) 21

Tableaux (hors publications) 23

Abréviations (hors publications) 24

Introduction 26

1 Contexte scientifique 32

1.1 Le plastique 32

1.1.1 Histoire du plastique 32

1.1.2 Composition des plastiques.....35

1.1.3 Essor de la production des plastiques 38

1.1.4 Fin de vie des plastiques 41

1.1.5 Sources, transport et distribution, des plastiques en mer 44

1.1.6 Devenir des plastiques dans le compartiment marin.....46

1.1.7 Trois types de pollutions engendrées les plastiques 49

1.2 La perliculture 58

1.2.1 Importance de la perliculture dans l'économie locale 58

1.2.2 Histoire de la perliculture polynésienne 61

1.2.3 Impacts de la perliculture.....64

1.2.4 Impacts des plastiques perlicoles sur les nacres : mise à mal du devenir de la perliculture ? 69

1.3 Les espèces bioindicatrices de pollutions plastiques marines 72

2 Développement de tests toxicologiques larvaires adaptés aux espèces tropicales 74

2.1 Préambule.....74

2.2 Article écotoxicologie (publié) - *Science of the Total Environment*79

2.3 Discussion : Comparaison de la composition des lixiviats de plastiques avec l'étude de Gardon et al., (2020a).....107

2.4 Conclusion et perspectives 110

3 Approche en mésocosmes 112

3.1 Préambule 112
3.2 Article Soumis – *Frontiers in Marine Science* 114
3.3 Discussion : les limites des mésocosmes et les problèmes rencontrés 143
3.3.1 Les coraux, *Pocillopora damicornis* 143
3.3.1 Les huîtres *P. margaritifera* et les bénitiers *T. maxima* 145
3.3.2 Séquençage bactérien 147
3.4 Conclusion et perspectives 148

4 Mission huîtres sentinelles, une approche de la contamination en microplastiques *in situ* 150
4.1 Préambule 150
4.2 Matériels et méthodes 151
4.2.1 Sélection des îles et des sites 151
4.2.2 Les huîtres perlières, sentinelles des lagons ? 156
4.2.3 Suivi des paramètres environnementaux 159
4.2.4 Suivi physiologique des huîtres perlières 159
4.2.5 Quantification des particules de microplastiques 161
4.2.6 Analyses statistiques 164
4.2.7 Corrélation des variables et régression linéaire 164
4.3 Résultats 165
4.3.1 Comparaison du taux de croissance des huîtres des quatre atolls 165
4.3.2 Comparaison de la concentration de glycogène des huîtres des 4 atolls 166
4.3.3 Quantification et qualification des microparticules retrouvées dans les huîtres 168
4.3.4 Quantification et qualification des microparticules retrouvées dans la colonne d'eau 174
4.3.5 Comparaison de la contamination en microparticules des huîtres et de la colonne d'eau sur l'île de Takaroa 176
4.3.6 Etude de la corrélation des paramètres biotiques et abiotiques 182
4.4 Discussion 190
4.4.1 Différences des indices de conditions des huîtres en fonction du temps 191

4.4.2 Différences des indices de conditions des huîtres en fonction des sites 192
4.4.3 Le taux de contamination en microparticules des huîtres explique-t-il la variabilité des indices de condition observée ? 194
4.4.4 Etat de contamination des huîtres perlières et de l'eau : comparaison avec des données ultérieures 198
4.4.5 Les huîtres perlières constituent-elles de bons bioindicateurs de la pollution en MPs du milieu ? 199
4.4.6 *Quid* de la pollution chimique des lagons ? 202
4.4.7 Comment réduire les sources de contamination des échantillons ? 204
4.5 Conclusion 206
4.6 Annexes 208

5 Perspectives et enjeux de la perliculture en Polynésie française : les défis à l'horizon 214

5.1 Préambule 214
5.2 La perliculture, une filière sous pression 215
5.2.1 Les huîtres perlières menacées par la perliculture et les activités humaines 215
5.2.2 La perliculture : Modification des écosystèmes lagonaires à grande échelle 218
5.3 Facteurs autres que la pollution plastique pouvant impacter la perliculture 222
5.3.1 Le changement climatique 222
5.3.2 Une diminution de recrutement larvaire inquiétante 224
5.4 progrès et amélioration 227
5.4.1 Améliorer la qualité des échanges et la transmission de savoirs 227
5.4.2 Ramassage et valorisation des déchets 229
5.4.3 Diminuer l'utilisation de plastiques 232
5.5 Annexes 235

6 discussion générale et perspectives 236

6.1 Préambule 236
6.2 Evaluation de la toxicité des matériaux perlicoles : une étape obligatoire avant leur mise en eau 237

6.3 Evaluation du potentiel des bactéries comme espèces bioindicatrices 240

6.4 Evaluation du potentiel des huîtres perlières comme espèces bioindicatrices 242

7 References 246

7.1 Bibliographie 246

7.2 Webographie 290

FIGURES (HORS PUBLICATIONS)

Figure 1. Production globale de plastiques de 1990 à 2019 par polymère. .37

Figure 2. Utilisation des différents polymères plastiques par secteurs 37

Figure 3. Evolution de la répartition de la production globale de plastiques par secteurs industriels de 1990 à 2019. 40

Figure 4. Temps moyen d'utilisation des plastiques. 40

Figure 5. Différents scénarii de gestion d'un déchet possible dans le monde 42

Figure 6. Classification des différents polymères plastiques en fonction de leur nature et de leur capacité de biodégradabilité 43

Figure 7. Plastiques retrouvés (a) sur les plages, (b) et (c) à la surface l'eau en Méditerranée. 44

Figure 8. Principales rivières responsables de la pollution plastique des océans.. 45

Figure 9. Temps de décomposition moyen des débris plastiques en mer....47

Figure 10. Distribution des particules marines de plastiques en fonction de leur taille. 48

Figure 11. Compilation des effets observés de la toxicité des plastiques sur les organismes marins. 53

Figure 12. Evolution du prix de la perle en Polynésie française 60

Figure 13. Répartition des fermes perlières en Polynésie française en 2018.. 61

Figure 14. Comme un air de famille. 62

Figure 15. Sur les bords d'un atoll polynésien.. 63

Figure 16. Déchets perlicoles observés à Takaroa.....67

Figure 17. Les différents types de matériaux plastiques rencontrés dans les fermes perlières en Polynésie française. 68

Figure 18. La carte de référence des couleurs du corail. 143

Figure 19. Représentation des courbes de probabilité de survie des boutures coralliennes en fonction des concentrations de plastiques perlicoles et du temps.. 144

Figure 20. Comparaison des taux de croissance et des concentrations en glycogène musculaires de *P. margaritifera* et *T. maxima.* 147

Figure 21. Carte de l'archipel des Tuamotu.. 153

Figure 22. Images satellites des quatre atolls sélectionnés**.**.....153

Figure 23. Comparaison des taux de croissance intra et inter-iles 166

Figure 24. Comparaison de la concentration en glycogène musculaire intra et inter-iles.....168

Figure 25. Pourcentages relatifs des différentes natures de particules retrouvées dans les huîtres 170

Figure 26. Pourcentages relatifs des différentes classes de tailles de particules 171

Figure 27. Pourcentages relatifs de la forme des particules retrouvées dans les huîtres.....172

Figure 28. Caractérisation de la nature des différents polymères plastiques retrouvés dans les huîtres.....173

Figure 29. Informations sur les caractéristiques physiques des particules retrouvées dans les échantillons de la colonne d'eau.....175

Figure 30. Caractérisation de la nature des différents polymères plastiques retrouvés dans la colonne d'eau.....176

Figure 31. Comparaison de la nature des particules identifiées dans les huîtres et dans la colonne d'eau. 177

Figure 32. Comparaison de la taille des particules identifiées dans les huîtres et dans la colonne d'eau 178

Figure 33. Comparaison de la forme des particules identifiées dans les huîtres et dans la colonne d'eau. 179

Figure 34. Comparaison des polymères de plastique identifiées dans les huîtres et dans la colonne d'eau 180

Figure 35. Analyse en composantes principales des principales variables environnementales mesurées lors de la mission « Huîtres Sentinelles »....184

Figure 36. Carte de chaleur de la corrélation entre les indices de conditions des huîtres et les paramètres environnementaux mesurés lors de la mission « Huîtres Sentinelles.....185

Figure 37. Résultats des régressions réalisées entre les indices de condition des huîtres et les paramètres environnementaux. 187

Figure 38. Régression linéaire entre le taux de croissance individuel des huîtres et la concentration de particules de cellulose 189

Figure 39. Opération de nettoyage effectuée par une équipe de plongeurs à Takaroa.....230

Figure 40. Opération de nettoyage des déchets perlicoles réalisée à Takapoto en mars 2022.....231

TABLEAUX (HORS PUBLICATIONS)

Table 1. Récapitulatif des quantités de déchets immergés estimées dans les atolls perlicoles. 66

Table 2. Etude d'évaluation du stock de déchets perlicoles à terre. 67

Table 3. Autorisation et plafond de gestion accordés par la DRM en 2024. 76

Table 4. Comparaison de la composition de lixiviats. 109

Table 5. Mortalités des bénitiers et des huîtres perlières recensées dans les différents mésocosmes. 146

Table 6. Coordonnées géographiques des 12 sites de la mission « Huîtres Sentinelles ». 155

Table 7. Caractéristiques des lagons étudiés. 156

Table 8. Calculs des volumes d'eau filtrés par huîtres. 181

Table 9. Coefficients de corrélation de Pearson et significativité des corrélations entre le Taux de croissance (TC) et les différentes natures de particules retrouvées par gramme de chair humide. 188

Table 10. Coefficients de corrélation et significativité des corrélations entre le taux de croissance (TC) et les différents polymères retrouvés par gramme de chair humide d'huître. 190

Table 11. Volume en m^3 des déchets perlicoles terrestres collectés par la DRM depuis 2021. 231

ABREVIATIONS (HORS PUBLICATIONS)

ARB : bactéries résistantes aux microbes

CL : lixiviat contrôle

DCSMM : Directive Cadre Stratégie pour le Milieu Marin

DDT : dichloro-diphényl-trichloroéthane

DEP : diéthyl phtalate

DEB : budget énergétique dynamique

DMP : diméthyl phtalate

DRM : Direction des Ressources Marines

EPDM : éthylène-propylène-diène monomère

GIEC : Groupe d'experts Intergouvernemental sur l'Evolution du Climat

HAP : hydrocarbures aromatiques polycycliques

HOC : composé organique hydrophobe

HDPE : polyéthylène à haute densité

ISPF : Institut de la Statistique de la Polynésie française

LDPE : polyéthylène à faible densité

MPs: microplastiques

MNPs : micro et nanoplastiques

MRG : gènes de résistance aux métaux

NBR : le nitrile-butadiène

NPs : nanoplastiques

PA : polyamide

PBDE : polybromodiphényléthers

PCB : polychlorobiphényles

PCR : réaction en chaine par polymérisation

PE : polyéthylène

PET : polyéthylène téréphtalate

POPs : polluants organiques persisitants

PP : polypropylène

PPL : lixiviat de plastique perlicole

PUR : polyuréthane

PS : polystyrène

PVC : polychlorure de vinyle

SBR : styrol-butadiène

SPMD : Dispositif à Membrane Semi-Perméable

UPR : résine polyester insaturée

UV : ultra-violet

INTRODUCTION

Les matériaux plastiques ont connu un succès grandissant depuis près de 70 ans. Faisant partie intégrante de notre quotidien actuel, ces matériaux se retrouvent absolument partout où nos yeux se posent. La demande est telle, qu'aujourd'hui on estime entre 400 et 460 millions de tonnes de plastiques produits annuellement (Plastics Europe, 2023). Une fois hors d'usage, une fraction non négligeable de déchets plastiques générés va se retrouver dans la nature et on estime entre 0,5 et 2.7 millions de tonnes la quantité de plastique rejetée annuellement dans les océans (Kaandorp et al., 2023; Meijer et al., 2021). Cette pollution a pendant longtemps été négligée. Ce n'est que récemment que la lumière a été mise sur les dangers que représentait la présence de plastiques dans les océans. Pour illustrer ce paradoxe, les microplastiques par exemple, qui correspondent aux plastiques inférieurs à 5mm, avaient été identifiés pour la première fois dans les océans dans les années 70 (Carpenter et al., 1972). Mais ce n'est que récemment que les microplastiques ont été reconnus comme des polluants émergents et présentant un risque important pour la biodiversité dans l'environnement marin (Guzzetti et al., 2018). Cependant, contrairement à d'autres polluants, aucun seuil de concentration de macro, micro ou encore nanoplastiques n'est indiqué pour l'évaluation actuelle de la qualité de l'eau de mer, ce qui met en évidence l'absence de normes efficaces pour évaluer la toxicité des plastiques (Leistenschneider et al., 2023). Cette situation peut s'expliquer par l'addition des trois types de pollutions induites par la présence de plastiques en mer : physique, chimique et biologique. La grande diversité des formes, des polymères, des tailles et des additifs dans la famille des plastiques rend extrêmement difficile l'établissement d'une norme d'évaluation de leur toxicité et de l'écotoxicité globale de la pollution plastique. La toxicité se définit comme le potentiel d'un composé à induire un stress biologique, chimique ou physique chez un organisme. L'écotoxicité, quant à elle, fait référence aux effets des substances chimiques susceptibles de

provoquer un stress chez les organismes vivants au sein des écosystèmes, en tenant compte des interactions entre ces substances et les composantes biotiques et abiotiques de l'environnement (Leistenschneider et al., 2023). La toxicité et l'écotoxicité des plastiques dépendent des organismes exposés. L'intérêt de la recherche pour les impacts toxiques du plastique s'est intensifié au cours de la dernière décennie. La mise en lumière par la communauté scientifique des vastes problèmes sous-jacents à la pollution plastique, a peu à peu mené à la prise de décisions législatives de la part des plus hautes institutions.

Le premier tournant dans cette prise de conscience, a eu lieu en 2000 avec la rédaction de la Directive Cadre de l'Eau (DCE). La DCE est principalement axée sur la gestion et la protection des ressources en eau, notamment des cours d'eau, des lacs, des eaux côtières et des eaux souterraines. Néanmoins, dans ce texte législatif promu par le Parlement Européen, il est intéressant de noter que le terme de « plastique » n'a pas été mentionné une seule fois (DCE, 2000).

En 2008 est rédigée la Directive Cadre Stratégie pour le Milieu Marin (DCSMM). Elle établit des objectifs communs pour l'Union Européenne en matière de protection et de conservation du milieu marin et veille au caractère durable des activités économiques liées au milieu marin. Le concept de « bon état écologique du milieu » est alors au centre des préoccupations. On considère l'écosystème marin dans son ensemble, il ne s'agit plus simplement de préserver la qualité de l'eau mais également de la faune et de la flore marine (European Union).

Douze années plus tard, en 2020, sort la première évaluation des actions promulguées lors de l'adoption de DCSMM par les États membres. Dans ce rapport officiel européen, les déchets plastiques sont mentionnés pour la première fois comme un problème de préoccupation majeur. Ce rapport conclut que le système de protection du milieu marin doit être renforcé pour résoudre certaines questions comme la surpêche et les pratiques de pêche non durables, les déchets plastiques, les nutriments excédentaires, les sources sonores sous-marines et d'autres formes de pollution. Le rapport indique que, avant la mise en place de la DCSMM, l'évaluation des déchets plastiques marins était très approximative. Grâce à la surveillance et aux connaissances générées dans le cadre de la DCSMM, l'Union européenne a pu adopter une nouvelle législation visant à réduire les plastiques à usage unique et les engins de pêche perdus, qui représentent à eux seuls près de 70 % des déchets retrouvés sur les plages. La DCSMM, fixe l'objectif de mettre un terme à la production de déchets marins et exige des États membres qu'ils prennent

des mesures pratiques pour faire cesser le dépôt sauvage de déchets, y compris de déchets marins. Il est néanmoins regrettable que, dans toutes les eaux de l'Union européenne, peu d'informations soient disponibles concernant les contaminants ou substances non réglementés, issus notamment des déchets plastiques, qui pourraient s'accumuler dans les poissons et fruits de mer destinés à la consommation humaine. Pour améliorer la surveillance de la pollution marine, la DCSMM fixe plusieurs objectifs, dont une exploitation plus efficace des données, la création de réseaux de surveillance conjoints, et la mise en place d'approches méthodologiques harmonisées à l'échelle régionale (Rapport de la commission au Parlement Européen et au Conseil, 2020).

Ce constat urgent de la nécessité de prendre des mesures contre la pollution plastique a été renforcé en 2020 par la publication du rapport de l'« Office Parlementaire d'Evaluation des Choix Scientifiques et Technologiques (OPECST) - Pollution plastique : une bombe à retardement ? » (Bolo & Préville, 2020). Le terme de microplastiques y est cité et déplore que « la réduction de la pollution chimique par les microplastiques ne fait actuellement l'objet d'aucune stratégie spécifique ». Ils recommandent également d'interdire dans la formulation des plastiques des substances classées par REACH (Enregistrement, Évaluation, Autorisation et Restriction des substances Chimiques) comme les substances toxiques, polluantes très persistantes et bioaccumulables. Ce rapport souligne à nouveau l'urgence de standardiser les protocoles de collecte et de mesure des données sur la pollution plastique, ainsi que la nécessité d'intensifier les recherches pour mieux comprendre les impacts toxiques des microplastiques. Il met également en avant le besoin de développer de nouvelles méthodes d'évaluation des risques qui intègrent les effets combinés avec d'autres polluants.

Afin de réagir en temps réel aux menaces actuelles et futures de la pollution plastique, la DCSMM a été modifiée en 2022. Lors de cet amendement la Commission Européenne encourage à « travailler sur des outils de suivi et d'élaboration d'une réponse politique aux substances problématiques, telles que les microplastiques ». Cela fait suite à de nouvelles données scientifiques qui ont montré les effets synergiques possibles des plastiques avec des substances chimiques sur la santé et l'environnement.

Ces étapes progressives, ponctuées par un ping-pong entre découvertes scientifiques, prise de conscience générale et adoption de mesures législatives, ont progressivement conduit à une réelle volonté de réduire la pollution plastique. En France, une loi a récemment été voté dans

ce sens, et vise à interdire l'utilisation de plastiques à usage unique d'ici 2040 (Ministère de la transition écologique, 2021).

Dans ce contexte, le présent manuscrit décrit l'ensemble des travaux de recherche effectués dans le cadre du projet Microlag2 co-financé par la DRM (Direction des Ressources Marines en Polynésie française) et par l'IFREMER (Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer). Cette thèse, réalisée sous la direction de Denis SAULNIER (UMR 241 SECOPOL) et Chantal COMPERE (Directrice Scientifique IFREMER), a débuté en janvier 2021 et vise à poursuivre deux objectifs principaux. Tout d'abord il s'agit de contribuer à l'augmentation des connaissances sur l'impact des plastiques perlicoles sur divers organismes marins tropicaux. Ensuite, en suivant scrupuleusement les préconisations exprimées dans le cycle 3 de la DCSMM (Directive Cadre Stratégie pour le Milieu Marin), ces travaux visent également à développer des protocoles standardisés et des outils adaptés aux écosystèmes tropicaux, qui sont encore très peu étudiés.

Pour ce faire, ce manuscrit s'articule autour de six chapitres.

Le **chapitre 1** définit les éléments essentiels à l'appréhension de la problématique relative aux plastiques dans le contexte particulier de la perliculture en Polynésie française. Il aborde au préalable l'émergence et la popularité croissante du plastique au fil du temps, fournit quelques chiffres sur sa production et explore les divers secteurs où il est devenu indispensable. Ce chapitre inclut également des informations sur la composition du plastique et les différents scénarii possibles de la fin de vie des déchets plastiques, en détaillant leur devenir et les impacts sur les organismes marins. La seconde partie de ce chapitre traite de l'importance économique et de l'histoire de la perliculture en Polynésie française. Nous y examinons également les liens étroits qui se sont tissés au fil des années entre le plastique et la perliculture, ainsi que les problèmes liés à l'utilisation excessive de ces matériaux, dont la gestion en fin de cycle est parfois déficiente dans les atolls reculés où la culture de la perle est pratiquée. Enfin, ce chapitre introduit la notion d'espèce bioindicatrice, en soulignant l'intérêt de certaines espèces dont les caractéristiques particulières permettent aujourd'hui de surveiller l'état de la contamination par le plastique dans divers environnements.

Le **chapitre 2** est consacré à l'évaluation de l'effet des lixiviats de plastiques perlicoles sur le développement larvaire de plusieurs espèces tropicales. À cette occasion, des protocoles de tests

en microplaques de culture cellulaire ont été développés pour des organismes marins encore peu ou pas étudiés en toxicologie. Les résultats obtenus ont été valorisés par la rédaction d'un article scientifique qui sera présenté dans ce même chapitre. Les différents problèmes et limites observés lors de ces tests larvaires seront également abordés. Enfin, la composition chimique du lixiviat de plastique obtenu sera comparée aux résultats de précédentes études réalisées au Centre Ifremer du Pacifique, afin de conclure sur les aspects limitants de cette méthodologie.

Le **chapitre 3** présente les résultats de notre expérimentation en mésoscosmes. Pendant deux mois, des plastiques neufs perlicole ont été immergés dans des aquariums reproduisant de manière simplifiée un écosystème lagonaire tropical. Après analyse métabarcoding des ADN bactériens présents dans les différents milieux de l'aquarium (colonne d'eau, bénitiers et plastiques), nous avons observé une augmentation de l'abondance de certains genres bactériens dans les bacs contenant de fortes concentrations de plastiques. De plus, certaines des bactéries favorisées par ces concentrations élevées de plastiques ont été identifiées comme pathogènes dans des études antérieures. Cette découverte, encore unique à ce jour, ouvre des perspectives intéressantes pour l'utilisation des bactéries comme bioindicateurs de la pollution plastique et met en garde contre le risque potentiel d'épizooties dans les milieux fortement contaminés par le plastique. Les résultats de cette découverte ont fait l'objet d'un article scientifique qui sera présenté dans ce même chapitre.

Parmi les travaux réalisés dans le cadre de cette thèse, une partie importante a été consacrée à des missions *in situ*. En tout, douze missions ont été menées dans le cadre du projet « Huîtres Sentinelles », durant lesquelles 1 200 huîtres ont été suivies à travers quatre atolls plus ou moins impactés par les activités perlicoles et anthropiques : Takapoto, Takaroa, Anaa et Tikehau. Après six mois de suivi, des différences significatives ont été observées entre les groupes d'huîtres. L'analyse des indices de condition a révélé un lien significatif entre le taux de croissance, le glycogène musculaire et les paramètres environnementaux variables entre les différents lagons. Une corrélation a également été identifiée entre les indices de condition et le taux de particules de cellulose présentes dans les huîtres, ces particules pouvant provenir de sources naturelles ou indiquer une pression anthropique présente sur l'île. Des microparticules de plastiques ont été retrouvées dans toutes les huîtres échantillonnées lors de ce projet. Cependant, des difficultés logistiques et analytiques ont également été rencontrées au cours de

cette expérience. Le **chapitre 4** décrit à la fois les résultats de ce projet, les défis rencontrés et propose des recommandations pour les analyses futures.

Les résultats obtenus à partir des expériences menées, ainsi que les données issues de recherches bibliographiques et les échanges avec les professionnels de la filière perlicole, ont conduit à une réflexion plus large sur les perspectives et les enjeux actuels et futurs de cette filière. Le **chapitre 5** analyse les scénarios possibles pour l'avenir de la filière perlicole, en examinant les divers défis auxquels elle sera confrontée, tels que l'effondrement des stocks d'huîtres perlières, les modifications des écosystèmes lagonaires et les impacts du réchauffement climatique. Ce **chapitre 5** consacre également une section aux initiatives positives en cours, telles que les opérations de nettoyage à grande échelle des environnements contaminés par les déchets plastiques perlicoles, les efforts de revalorisation des déchets, et les recherches sur le développement de matériaux plus respectueux de l'environnement, qui pourraient remplacer le plastique à l'avenir.

Enfin, la dernière partie de ce manuscrit, le **chapitre 6**, est consacré aux conclusions et aux perspectives d'application des résultats de nos recherches. Cette section synthétise les principaux enseignements tirés des expériences et analyses réalisées et propose des orientations pour les recherches futures. Elle examine également les applications potentielles pour l'évaluation et le suivi de la toxicité des plastiques perlicoles, en cherchant à concilier la durabilité économique du secteur, crucial pour la Polynésie française, avec la préservation du bon état écologique des écosystèmes lagonaires.

1 CONTEXTE SCIENTIFIQUE

1.1 LE PLASTIQUE

En 2023 la barre des 400 millions de tonnes de plastiques produits a été franchie (Plastics Europe, 2023). Ces matériaux naturels ou bien formés par polymérisation d'hydrocarbure, ne semblent connaître de limites que celles de l'imagination humaine. Les capacités physiques et chimiques des matériaux regroupés sous le terme "plastique" en ont fait des incontournables de notre quotidien. Cependant le revers de la médaille est moins prospère, car une partie de cette gigantesque quantité produite annuellement ne sera pas correctement traitée et finira dans la nature. L'ampleur est telle que, l'Anthropocène, l'ère géologique à laquelle nous vivons, est caractérisée selon les géologues par la présence de particules de plastique dans les sédiments (Rangel-Buitrago et al., 2023). C'est pourquoi, la pollution plastique fait partie des préoccupations majeures de notre siècle. Ainsi, pour appréhender au mieux les défis actuels auxquels nous faisons face, il est important de découvrir les différentes facettes du plastique, de son histoire, sa production, son utilisation à sa fin de vie et les dangers que la pollution plastique représente.

1.1.1 Histoire du plastique : de sa création à son omniprésence actuelle

Après l'âge de pierre, de fer et de bronze, pouvons-nous définir notre ère contemporaine comme l'âge de plastique ? Les dénominations de ces périodes anthropologiques font

directement référence au nouveau matériau dompté de l'époque sortant peu à peu les Hommes de leur condition de bête vers la civilisation actuelle telle que nous la connaissons. L'omniprésence du plastique à notre époque est inéluctable. Cependant il a fallu plusieurs siècles, voire millénaires, à cette matière pour s'imposer dans notre quotidien. Les premières traces d'utilisation de plastique naturel auraient été retrouvées en Amérique du Sud et dateraient de 1600 ans avant notre ère. Il s'agissait de figurines et de vases réalisés en latex naturel (Les vases plastiques dans l'antiquité par Maximova et Carsow, 1928). D'autres amérindiens et amazoniens avaient eux aussi réussi à extraire la sève des plants de caoutchouc pour en faire des balles dont les propriétés rebondissantes étaient appréciées. Ils pouvaient également se servir de ce liquide pour en enduire des toiles et des torches qu'ils passaient ensuite à la flamme afin de les rendre étanches (The Codex Borgia par Diaz et Rodgers, 2013).

Il faudra attendre le 19ème siècle pour voir émerger les premiers plastiques artificiellement produits par l'homme. Ce long processus a été initié en 1835 par le français Henri-Victor Regnault lorsqu'il découvrit la polymérisation du chlorure de vinyle après exposition à la lumière. Regnault venait, sans le savoir, de découvrir le PVC (polychlorure de vinyle) (Poncet et al., 2011). Quelques années plus tard, les chimistes Friedrich Ludersdorf et Nathaniel Hayward découvraient que l'ajout de souffre suivi d'une exposition à la chaleur, rendait le caoutchouc plus durable et moins susceptible de fondre ou de devenir collant à des températures élevées (Le Caoutchouc, Académie de Montpellier). Ces travaux ont permis à Charles Goodyear de perfectionner et de populariser le procédé de vulcanisation permettant de transformer le caoutchouc naturel en un matériau industriel indispensable, ouvrant la voie à une multitude d'applications pratiques. En effet, Goodyear découvrit inopinément la vulcanisation du caoutchouc après avoir fait tomber dans une poêle un morceau de caoutchouc soufré puis l'aurait ensuite balancé de colère par la fenêtre. On était en 1839, c'était l'hiver à Woburn, la neige avait déjà fait un épais tapis sur le sol de cette ville du Massachusetts, le morceau de caoutchouc chaud tomba directement dans la neige et se refroidit instantanément. Par ce choc brutal de température les propriétés élastomères de la gomme furent stabilisées. Il améliora ensuite le processus de vulcanisation en reprenant les travaux de Ludersdorf et Hayward et ajouta du souffre permettant ainsi au caoutchouc de mieux résister aux écarts de températures sans couler ni casser. Grâce à cette matière, il mit au point de nombreuses inventions révolutionnaires telles que les canots de sauvetage, les ressorts ou encore les roues en caoutchouc pour n'en citer que quelques-unes (Charles Goodyear, Wikipédia).

Un autre tournant dans l'histoire du plastique s'opéra en 1862. Cette année, Alexander Parkes présenta à l'occasion de l'Exposition Universelle tenue à Londres, le premier polymère artificiel qu'il nomma parkésine, premier celluloïd référencé. Obtenue à partir de nitrocellulose, un composé dérivé du coton ou de la pulpe de bois, d'acide nitrique et d'un solvant, le camphre, cette matière thermoplastique (qui peut être façonnée en la faisant chauffer) offrit rapidement de grandes possibilités d'utilisations comme des objets décoratifs et des produits pratiques comme les poignées de couteaux, les boutons, les bijoux et autres petits objets (Parkes, 1865).

La suite de l'histoire du plastique moderne s'articule autour de ces mots clés : les éléphants, la guerre de Sécession et la (re)découverte du celluloïd. Difficile d'imaginer un lien entre ces trois éléments qui ont pourtant permis un formidable bon en avant pour l'ingénierie des plastiques artificiels. En avril 1861 la guerre éclate entre les états de l'Union au Nord et les états sécessionnistes au Sud de l'Amérique. Afin de limiter l'approvisionnement des états du Sud, l'Union met en place un blocus naval le « Scott's great snake » en référence au général Winfield Scott qui proposa cette stratégie. Il devient alors extrêmement compliqué à l'entreprise spécialisée dans les accessoires de billard, Phelan & Collender, de se procurer l'ivoire d'éléphant essentiel à la fabrication des boules de billard de l'époque. Ils décident alors de promettre un prix au premier qui réussira à synthétiser une matière réunissant toutes les propriétés de l'ivoire. Les frères Josh et Isaiah Wesley Hyatt, se mirent en quête de remporter ce lot, et brevetèrent en 1870 le celluloïd. Cette matière a par la suite été employée dans de nombreux objets du quotidien comme les jouets, les couteaux ou encore les touches de piano (Celluloïd, Winfield Scott, Guerre de Sécession).

D'autres acteurs illustres ont largement contribué à l'élaboration de nouveaux polymères permettant de trouver aux plastiques des utilisations toujours plus variées et essentielles. Pour n'en citer que quelques-uns, Leo Baekeland qui découvrit la Bakélite au début du 20ème siècle, matériau de fabrication des anciens téléphones, prises électriques ou encore des cendriers à base de phénol et de formaldéhyde. Quelques années plus tard en 1935, Wallace Hume Carothers synthétisa pour la première fois des fibres de polyamides (PA) plus communément appelées « nylon » en combinant deux monomères principaux : l'hexaméthylènediamine et l'acide adipique. Ces fibres seront extrêmement bien adaptées à la confection de tissus légers et résistants comme les collants et les parachutes (Matière plastique).

La sérendipité de nombreuses de ces découvertes a permis le développement rapide de pléthore de polymères et procédés de fabrication. *In fine*, il aura fallu moins de deux siècles à l'humanité pour mettre au point des polymères plastiques artificiels performants offrant résistance, légèreté, durabilité et ce à faible coût. Bien avant d'être un problème d'ampleur mondiale, le plastique était surtout un matériau permettant de repousser toujours plus loin les limites de l'ingénierie moderne. Pas étonnant donc, qu'à l'heure actuelle, nous retrouvions du plastique partout où notre regard se pose.

1.1.2 Composition des plastiques

1.1.2.1 Les différents polymères

Avec toute la diversité de formes et d'utilisations que l'on lui connait aujourd'hui, comment définir réellement le plastique ? Issu du grec ancien « plastikôs » qui signifie « relatif au modelage », les plastiques peuvent être classés en différentes catégories en fonction de leurs propriétés physiques et de leurs structures moléculaires. Concernant leurs structures moléculaires, les plastiques sont des polymères, ils sont constitués de grandes molécules qui correspondent à la répétition de sous unités identiques : les monomères. On classifie les polymères selon trois classes aux propriétés physiques différentes : les thermoplastiques, les thermodurcissables et les élastomères (Qu'est-ce qu'un polymère ? par Diana Dolatkhani, 2022).

Les thermoplastiques sous l'effet de la chaleur ont la capacité d'être modelé un nombre infini de fois sans que leurs propriétés mécaniques ne soient altérées. Les thermoplastiques sont de loin les plastiques les plus utilisés, représentant plus des trois quarts de toutes les matières plastiques produites dans le monde. Parmi les polymères thermoplastiques les plus abondamment produits (Figure 1), on retrouve : le polypropylène (PP), utilisé essentiellement dans les emballages alimentaires, le polyéthylène (PE) peut être de haute densité (HDPE) ou de faible densité (LDPE), on les retrouve surtout dans les sacs et les contenants divers, le polyamide (PA) aussi connu sous le nom de nylon, entre dans la confection de vêtements, matériel de pêche ou encore les toiles de parachute, le polychlorure de vinyle (PVC) est surtout employé dans les tuyaux de canalisation, le polyéthylène téréphtalate (PET), en raison de sa

transparence, sa légèreté et sa résistance mécanique et chimique le PET est souvent utilisé pour la confection des bouteilles en plastiques, des emballages alimentaires ou encore comme fibres textiles, le polyuréthane (PUR) est un parfait isolant thermique et acoustique et enfin le polystyrène (PS) qui de par sa légèreté et sa résistance est souvent utilisé dans les emballages, la vaisselle jetable ou bien l'isolation (Qu'est-ce qu'un polymère ? par Diana Dolatkhani, 2022, Propriété et application des polymères, 2023).

Les thermodurcissables sont eux des plastiques qui, une fois durcis, ne peuvent plus être modifiés par la chaleur ou d'autres processus. Ils sont utilisés dans des applications où une grande résistance est requise. Parmi les thermodurcissables, on retrouve la résine époxy, qui est largement utilisée dans la fabrication de composites renforcés de fibres pour des applications diverses telles que l'industrie aérospatiale, automobile ou marine, la résine phénolique, utilisée dans les composants électriques entre autres, le polyamide, qui de par sa grande résistance à la chaleur, à la corrosion et à l'abrasion est employée par l'industrie aérospatiale, automobile et électronique et enfin la résine polyester insaturée (UPR) et la résine polyuréthane qui sont utilisées dans la fabrication de pièces moulées pour la première et dans la fabrication de mousse et de divers revêtements pour la seconde (Blaga, 1975).

La dernière grande classe de polymères plastiques regroupe **les élastomères**. Les élastomères ont des propriétés élastiques, ce qui signifie qu'ils peuvent se déformer considérablement sous l'effet d'une contrainte, puis retrouver leur forme initiale une fois que la contrainte est relâchée. Les polymères faisant partie de cette classe les plus produits sont : le styrol-butadiène (SBR), surtout pour la fabrication de pneu et de semelles de chaussures, le polychloroprène plus connu sous le nom de néoprène est très prisé des plongeurs car il compose en grande partie les combinaisons de plongée, le nitrile-butadiène (NBR), compose les joints d'étanchéité, les gants ou encore les tuyaux, ils ont la capacité de résister aux huiles, aux carburants et aux produits chimiques, éthylène-propylène-diène monomère (EPDM), surtout utilisé dans l'industrie automobile et la construction, et enfin le caoutchouc naturel fait également partie des élastomères, est utilisé dans une variété d'applications telles que les pneus, les joints d'étanchéité, les gants, les tuyaux et les produits médicaux en raison de ses excellentes propriétés élastiques et de sa résistance à l'abrasion. Ainsi plastique ne rime pas forcément avec synthétique (Qu'est-ce qu'un élastomère ?).

Les polymères majoritairement produits appartiennent à la classe des thermoplastiques. En effet, les groupes les plus importants dans la production totale sont le PE (36 %), le PP (21 %) et le PVC (12 %), suivis par le PET, le PUR et le PS (<10 % chacun) (Geyer et al., 2017). Le PE et le PP, de par leurs propriétés physiques et chimiques, sont les polymères qui entrent le plus souvent dans la composition des emballages (Dey et al., 2021) (Figure 2). Il n'est donc pas étonnant donc de les retrouver en tête des polymères les plus produits.

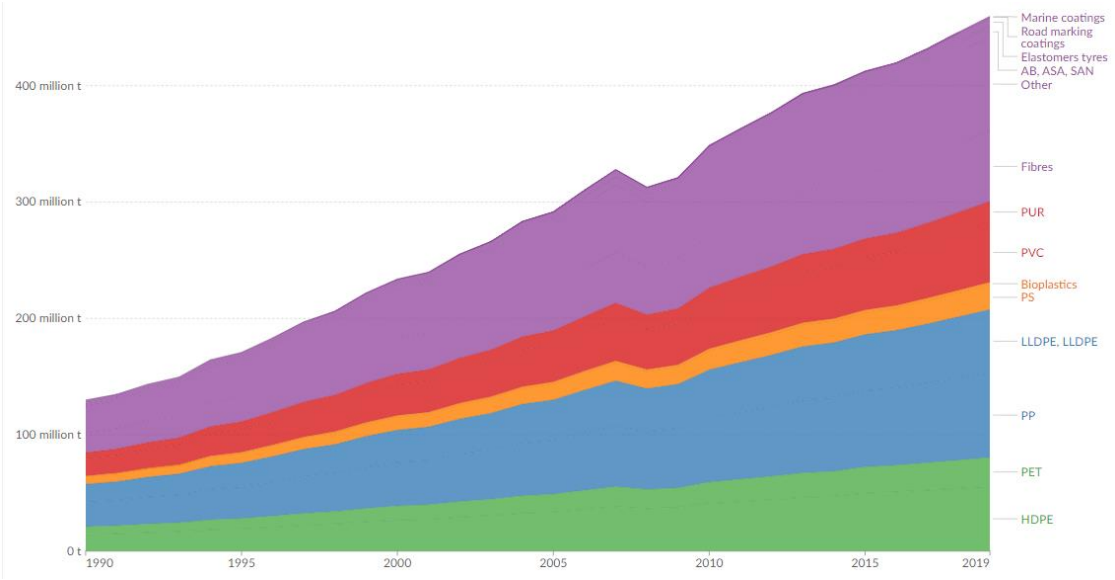


***Figure 1. Production globale de plastiques de 1990 à 2019 par polymère**. Données tirées de OECD (2022), figure réalisée par « Our World in Data ».*

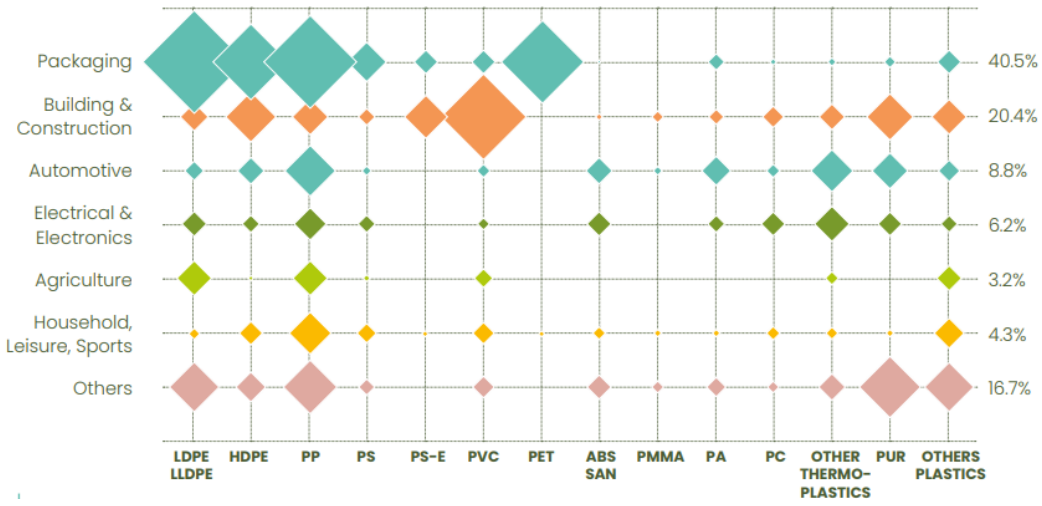


***Figure 2. Utilisation des différents polymères plastiques par secteurs d'activité**. Figure réalisée par Plastics Europe (2021).*

1.1.2.1 Les additifs

La plupart des matières plastiques intègrent non seulement le polymère de base, mais également des substances chimiques supplémentaires appelées additifs. Ces derniers sont utilisés pour améliorer ou modifier les propriétés de la matière plastique finale. Toutefois, les informations concernant la production d'additifs sont souvent limitées et ne sont généralement pas incluses dans les statistiques de production de matières plastiques (Geyer, 2020). Cependant la part d'additif peut représenter un pourcentage non négligeable de la masse totale. Des études menées précédemment ont par exemple montré qu'en moyenne les additifs des plastiques non fibreux représentaient 7 % de la masse du plastique (Geyer, 2020).

Les additifs peuvent conférer de nombreuses propriétés aux polymères auxquels ils sont ajoutés. Les plus utilisés sont : les additifs plastifiants qui augmentent la souplesse et la malléabilité du plastique, les retardateurs de flamme, ajoutés pour rendre les plastiques moins inflammables et les charges, qui peuvent être minérales ou fibreuses, modifient les propriétés physiques et réduisent les coûts des plastiques (Inrs, 2019). Ces trois types d'additifs représentent 75 % de la production annuelle mondiale d'additifs. Les autres types d'additifs sont les stabilisateurs thermiques, les antioxydants, les modificateurs d'impact, les colorants et les lubrifiants (Geyer et al., 2017).

Parmi les substances chimiques couramment utilisés comme additifs, et souvent matière à controverse, on peut par exemple citer les phtalates qui sont utilisés comme plastifiant ; le bisphénol A, le octylphénol et nonylphénol sont eux utilisés comme antioxydant et stabilisateur des plastiques, alors que l'acide borique et phosphate de tris (2-chloroéthyle) sont eux des retardateurs de flammes efficaces (Hermabessiere et al., 2017).

1.1.3 Essor de la production des plastiques

Notre utilisation du plastique est en constante augmentation. Cette demande croissante s'accompagne donc d'une production exponentielle de ces matériaux. Les plastiques non naturels, par opposition aux plastiques dits naturels comme le caoutchouc, sont produits par raffinage du pétrole ou par transformation de gaz naturels. En 1950 on comptait 2 millions de tonnes de plastiques produits (Geyer et al., 2017), aujourd'hui on estime entre 400.3 et 460

millions de tonnes de plastiques qui sont produits annuellement (Plastics Europe, 2023). Si l'on cumule l'ensemble des plastiques générés depuis les années 50, on arrive à une quantité colossale de plastiques produits supérieure à 10.7 milliards de tonnes (Geyer et al., 2017, OECD, 2022).

Environ 90 % de cette production vient de la pétrochimie, 8.8 % sont issus de plastiques recyclés et les quelques pourcentages restants représentent la part des « bio-plastiques » fabriqués à partir de sources renouvelables telles que des matières végétales (Plastics Europe, 2023). Les principaux contributeurs de cette production plastique sont la Chine à hauteur de 32 %, les autres pays d'Asie 19 %, les pays d'Amérique du Nord avec 17 % de la production totale et enfin l'Europe avec 14 % des plastiques produits (Plastics Europe, 2023).

Notre utilisation du plastique a progressivement évolué au cours des décennies (Figure 3). Dans les années 50 à 70, ces nouveaux matériaux ont peu à peu remplacé des matériaux plus chers ou plus difficiles à produire tels que le bois, le verre, ou encore les métaux et ce dans différents secteurs d'activité comme la construction ou encore les emballages alimentaires. Aujourd'hui près d'un tiers du plastique produit est utilisé dans les emballages, ce qui représentait en 2019 plus de 142 millions de tonnes de plastiques. A la deuxième place des secteurs les plus demandeurs en plastique, se trouve le secteur du bâtiment et de la construction avec environ 17 % de la production totale de plastique, puis suivent les secteurs de l'industrie textile, les transports et les produits de consommations (Geyer et al., 2017; Heinrich Böll Stiftung et al., 2021, OECD, 2022).

Un autre point alourdi grandement le problème de la production massive des plastiques. Les plastiques les plus produits sont ceux relatifs aux emballages des produits de consommation et sont également ceux dont la durée de vie est la plus courte. Ces plastiques sont généralement produits, utilisés et jetés en moins d'une année (Figure 4). L'utilisation massive des plastiques à usage unique est encouragée par notre "culture du jetable" et représente le cheval de bataille prédominant de la pollution plastique (Maguire et al., 2019). En Europe par exemple, ce sont environ 25 millions de tonnes de déchets plastiques post-consommation qui sont générés chaque année (Horodytska et al., 2018). Heureusement, une prise de conscience collective s'est initiée depuis quelques années et, en 2018, les États-Unis, la Commission européenne, le Royaume-Uni, le Chili ont interdit l'utilisation de produits à usage unique en plastique (Cristi et al., 2020; Godfrey, 2019). Il s'agit d'un premier pas vers une utilisation plus raisonnée des polymères

plastiques. Cependant, à l'heure actuelle, ce sont des montagnes de déchets qui se sont accumulés au cours de ces 70 dernières années. Le problème majeur réside dans le fait qu'aucune des matières plastiques couramment utilisées n'est biodégradable (Geyer et al., 2017). Une fois leur utilisation finie, que deviennent les déchets plastiques ? Il existe plusieurs scénarii possibles à cette question, des plus vertueux aux plus dommageables pour l'environnement.

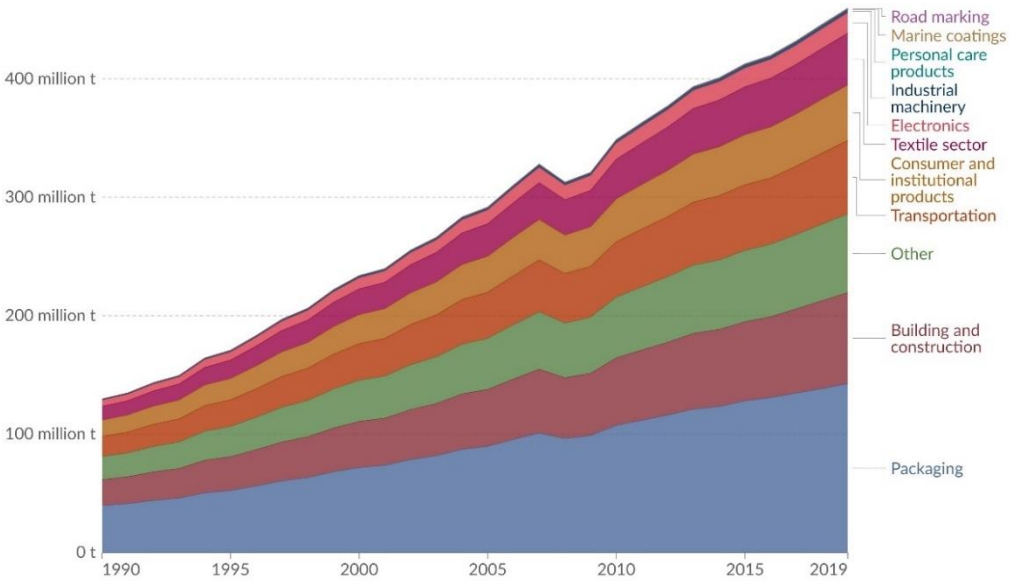


Figure 3. Evolution de la répartition de la production globale de plastiques *par secteurs industriels de 1990 à 2019. Données tirées de OECD (2022), figure réalisée par « Our World in Data ».*

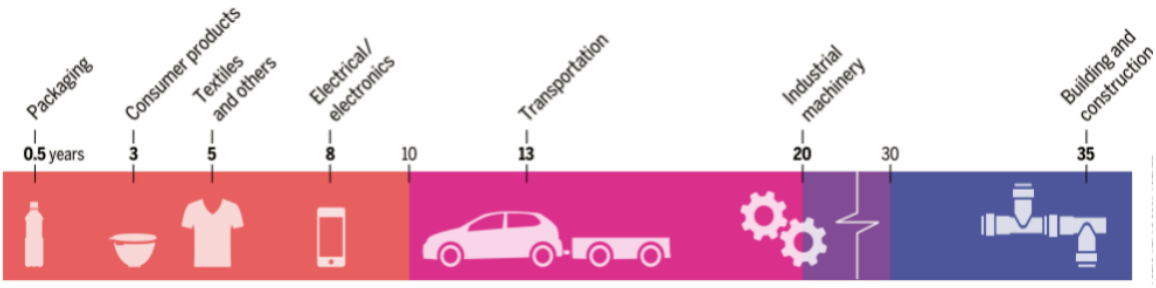


Figure 4. Temps moyen d'utilisation des plastiques*. Ces valeurs sont exprimées année et dépendent du secteur industriel considéré. Figure tirée de Plastic Atlas 2021 (Heinrich Böll Stiftung et al., 2021)*

1.1.4 Fin de vie des plastiques

Qu'il s'agisse de quelques minutes ou bien de plusieurs décennies, tout objet en plastique produit finira sa course à l'état de déchet. Quelles sont alors les possibilités de traitement pour les déchets générés ? A l'heure actuelle, il existe quatre scénarii principaux pour les déchets plastiques : le recyclage, l'incinération, la décharge ou tout simplement la non gestion du dit déchet.

La fin la plus vertueuse pour le plastique est **le recyclage**. Le recyclage consiste à retraiter les déchets afin de créer des plastiques secondaires (recyclés). En fonction de la pureté des plastiques secondaires nouvellement formulés, le nombre de cycles de recyclage est limité. Ainsi le recyclage retarde l'élimination finale des plastiques plutôt qu'il ne la résout (Zink & Geyer, 2019). De plus, le recyclage des plastiques n'est pas adapté à tous les types de plastiques. Les thermodurcissables et les élastomères sont plus difficiles à recycler que les thermoplastiques en raison de leurs propriétés chimiques et de leurs structures moléculaires. Une étude sur les déchets générés à l'échelle mondiale en 2019 évalue à environ 9 % la fraction de déchets plastiques qui sont réellement recyclés (OECD, 2022). A l'heure actuelle, les processus de gestion et de recyclage des déchets seuls ne peuvent pas suivre le rythme de la production plastique (Ellen MacArthur Foundation, 2017).

La deuxième option pour le traitement des déchets plastiques est de **les détruire thermiquement**. Il existe des technologies de conversion du plastique en carburant, telles que la pyrolyse et la gazéification, mais elles ne sont actuellement ni répandues, ni rentables. Par conséquent, presque toute la destruction thermique à ce jour a été réalisée par incinération, avec ou sans récupération d'énergie. Les impacts sur la santé et l'environnement de l'incinération des déchets plastiques dépendent de la technologie de contrôle des émissions utilisée, ainsi que de la conception et du fonctionnement de l'incinérateur (Geyer, 2020). Pour l'année 2019, c'est 19 % des déchets qui ont été incinérés (OECD, 2022).

La solution encore majoritaire aujourd'hui reste l'élimination des plastiques dans **les décharges** gérées avec enfouissement ou bien dans les décharges à ciel ouvert. Cette pratique représente le scénario le plus probable pour 50% des déchets plastiques (OECD, 2022).

Enfin les 22 % des déchets n'appartenant à aucune des trois possibilités préalablement citées, ont très probablement été éliminés dans des **décharges non contrôlées**, brûlés dans des fosses à ciel ouvert ou se sont répandus dans l'environnement (OECD, 2022).

Cependant, l'optimisation de la gestion des déchets représente un défi complexe, impliquant diverses problématiques telles que la réduction des déchets, leur collecte, leur tri selon les types de plastiques, ainsi que l'amélioration des schémas et des flux de recyclage (Hopewell et al., 2009; Rivers et al., 2017). Ces défis sont particulièrement présents dans les pays qui ne disposent pas de systèmes de gestion des déchets efficaces comme les pays d'Afrique, d'Amérique du sud et certains pays d'Asie (Oyake-Ombis et al., 2015). Le rapport de l'OECD de 2022, fournit un aperçu détaillé des disparités dans les pratiques de gestion des déchets selon les pays (Figure 5). Par ailleurs, de nombreux pays, en particulier en Asie, sont confrontés à la gestion de volumes supplémentaires de déchets plastiques provenant des nations développées (Brooks et al., 2018).

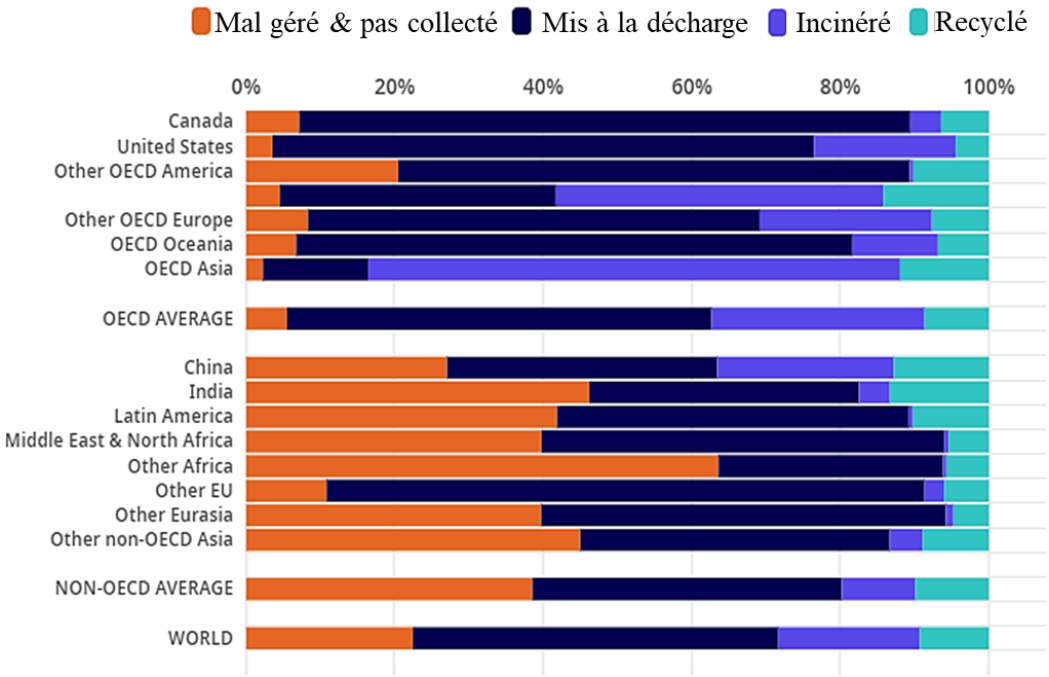


Figure 5. Différents scénarii de gestion d'un déchet possible dans le monde. *Figure adaptée de OECD (2022).*

Néanmoins, plusieurs stratégies existent pour réduire les quantités de déchets à l'avenir. Premièrement il faudrait réduire drastiquement notre consommation de plastique en limitant les utilisations surperflues comme le sur-emballage de certains produits. Deuxièmement, lorsque

cela est possible, la rénovation ou la réparation des matériaux endommagés devrait être privilégiée afin de leur offrir une seconde vie. Enfin, il est essentiel de se tourner vers des matériaux naturels plus durables ou bien biodégradables. Les matériaux sont concidérés comme biodégradables si leur décomposition est complète et peut être réalisée par des micro-organismes qui produiront alors des éléments de base comme du dioxyde de carbone, de l'azote ou de l'eau (Analyse des matériaux pour l'assurance qualité et la dégradation des bioplastiques, Rajaram et Onepe, 2022). Cette approche permettrait de réduire considérablement les impacts environnementaux des déchets générés par les activités anthropiques. Cependant, il est important de faire le distinguo entre plastiques biosourcés et biodégradables car tous les plastiques biosourcés ne sont pas biodégradables et inversement les plastiques pétrosourcés peuvent être biodégradables (Figure 6).

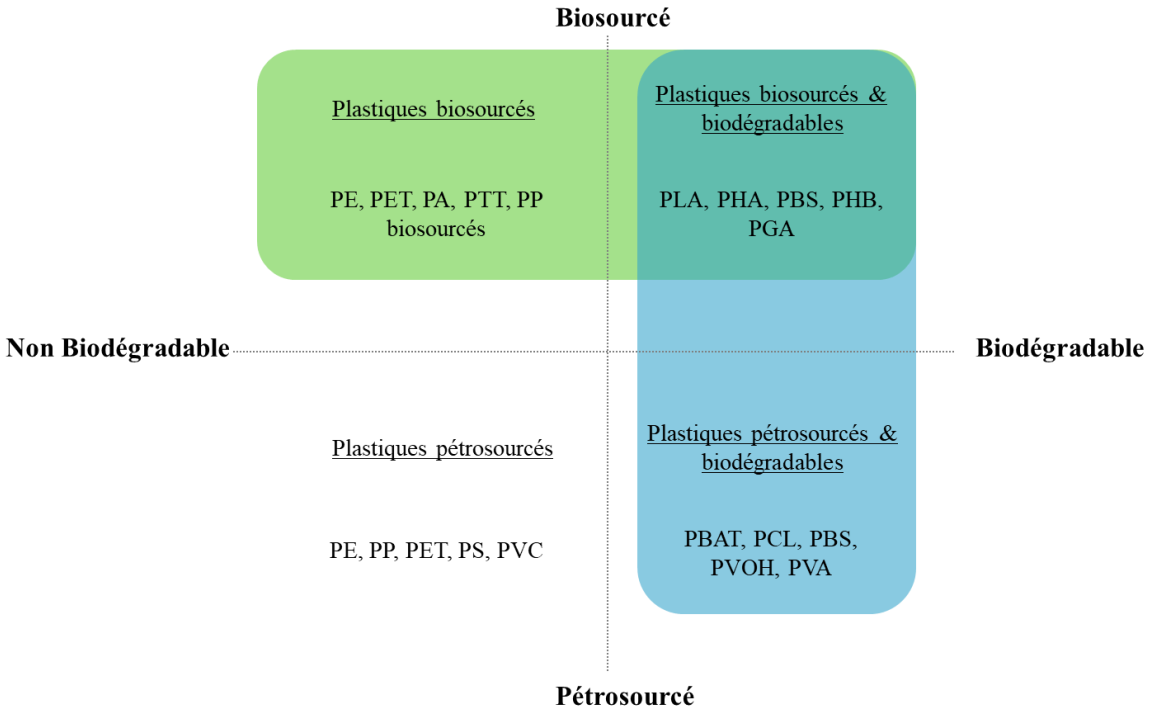


Figure 6. Classification des différents polymères plastiques en fonction de leur nature et de leur capacité de biodégradabilité. *Figure adaptée de l'Analyse des matériaux pour l'assurance qualité et la dégradation des bioplastiques, Rajaram et Onepe, (2022).*

Il est donc nécessaire d'intensifier la recherche et l'utilisation des plastiques biosourcés, bien qu'ils soient encore ultra minoritaires à l'heure actuelle. L'utilisation de ce type de plastiques

est actuellement étudiée en Polynésie française dans des domaines comme la perliculture (Crusot et al., 2021). Bien que ces matériaux soient issus de sources renouvelables, la majorité d'entre eux contiennent également des substances chimiques toxiques et présentent des risques similaires à ceux des plastiques conventionnels (Zimmermann et al., 2020). Avant de promouvoir l'utilisation à grande échelle des plastiques biosourcés, il est donc essentiel de s'assurer qu'ils répondent aux exigences de la norme européenne EN 13432. Cette norme garantit que les matériaux commercialisés sont compostables et exempts d'additifs nocifs pour l'environnement (EN 13432 : des règles claires pour la compostabilité).

1.1.5 Sources, transport et distribution, des plastiques en mer

Dans les années 60, peu de temps après leur mise sur le marché, les premières observations révélant la présence de plastiques en mer ont été faites. Les principales causes de l'arrivée des plastiques dans le compartiment marin résultent d'un système de gestion des déchets défaillant couplé à des pratiques intentionnelles peu vertueuses (François Galgani et al., 2020). Contrairement aux autres compartiments atmosphérique et terrestre où les plastiques semblent pouvoir entrer et sortir, le milieu marin est perçu comme un piège pour le plastique, les flux entrants y sont très importants alors que les flux sortants y sont limités (Browne et al., 2011). L'océan comme dernière demeure, voilà ce qui explique l'omniprésence des plastiques en mer. Pour preuve, des études ont fait état de leur présence sur l'ensemble du globe, mais également dans tous les compartiments marins existants. Des plages, aux eaux de surfaces, dans la colonne d'eau, dans les sédiments marins et même dans la glace de mer Arctique, en passant par la fausse des Mariannes (Barnes et al., 2009; Chiba et al., 2018; P. T. Harris et al., 2023; Obbard et al., 2014) on trouve des fragments synthétiques partout (Figure 7).



Figure 7. Plastiques retrouvés (a) sur les plages, (b) et (c) à la surface l'eau en Méditerranée. *Crédit photographies: François Galgani.*

Ce phénomène est tel que les déchets plastiques dans le milieu marin représentent 50 à 80 % de l'ensemble des déchets et parfois même 100 % dans les cas des débris flottants (François Galgani et al., 2020). En 2015, on estimait que chaque année entre 4.8 et 12.7 millions de tonnes de plastique étaient déversées dans les océans (Jambeck et al., 2015a). Cette estimation a été révisée en 2021 pour se situer entre 0.8 et 2.7 millions de tonnes (Meijer et al., 2021). L'estimation la plus récente, basée sur des données de 2020, évalue à 0.5 million de tonnes la quantité de plastiques flottants annuellement apporté dans les océans. À ce chiffre, il convient d'ajouter 35 à 40 % supplémentaires pour tenir compte des plastiques plus denses qui atteignent également le milieu marin (Kaandorp et al., 2023). La quantité de plastiques nouvellement apportée à l'océan grossirait de 4 % chaque année à raison d'une augmentation de la quantité de déchets globale de 5 % (Geyer et al., 2017).

La principale source des plastiques dans le compartiment marin est due à des apports continentaux (Zhang et al., 2016). Ces derniers peuvent provenir de traitement d'effluents des eaux et leurs surverses, d'activités littorales de loisirs ou bien de décharges illégales littorales ou proches des fleuves. Les déchets produits vont être majoritairement charriés par les cours d'eau jusqu'au compartiment marin final. Les fleuves, contributeurs majoritaires aux émissions de plastiques enregistrés vers l'Océan, se situent en Asie (Figure 8) (Meijer et al., 2021).

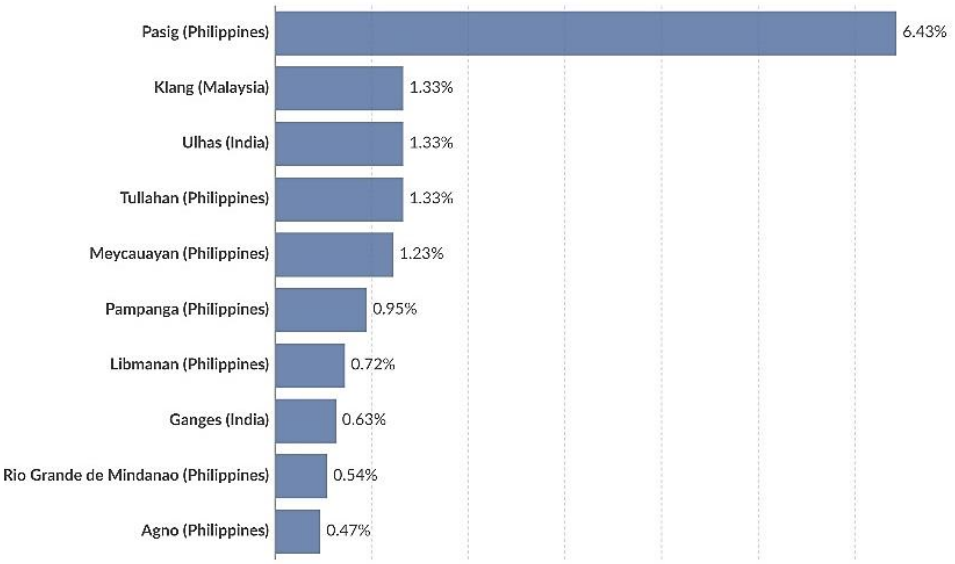


***Figure 8. Principales rivières responsables de la pollution plastique des océans**. Réalisée à partir des données (Meijer et al., 2021) et traitées par OECD (2022).*

Par ailleurs, les plastiques retrouvés en mer peuvent provenir d'activités se déroulant directement en pleine mer. Par exemple, le trafic maritime ou bien le secteur de la pêche et de l'aquaculture peuvent être responsables de pertes volontaires ou accidentelles de déchets plastiques (Crusot et al., 2023; François Galgani et al., 2020). Selon Kaandorp et al., (2023), les activités de pêche seraient ainsi responsables à hauteur de 45 à 48 % de la pollution plastique des mers totale enregistrée (Kaandorp et al., 2023).

Enfin, les plastiques légers, peuvent être mis en suspension, transportés dans l'atmosphère et apportés à l'océan par le vent et les évènements météorologiques (Zylstra, 2013). Ce mode de transport des plastiques par la voie aérienne est non négligeable. On estime que 0.013 à 25 millions de tonnes de micro et nanoplastiques atmosphériques seraient ainsi déposées chaque année par les vents dans l'océan (Allen et al., 2022).

L'ensemble de ces vecteurs de plastiques conduisent à l'émergence de zones marines fortement concentrées en plastiques. La plus connue sans doute est le « 7ème continent de plastiques » qui se trouve dans le gyre du Pacifique Nord. Loin d'être une sorte d'île flottante sur laquelle on pourrait accoster, il s'agit néanmoins d'une zone de convergence de débris où de fortes concentrations de plastiques ont été enregistrées. Les concentrations y atteignent des moyennes de plusieurs centaines de milliers de débris par km^2 (Eriksen et al., 2014).

1.1.6 Devenir des plastiques dans le compartiment marin

La durabilité des plastiques est l'avantage prépondérant de ces polymères, cependant elle devient le principal problème une fois que ces derniers se retrouvent dans l'Océan. En effet, la durée d'utilisation des matériaux plastiques est toujours largement inférieure aux temps nécessaires pour leur biodégradation. Il faut, par exemple, en moyenne 600 ans à du matériel de pêche ou encore 450 ans à une bouteille en plastique pour se dégrader en mer (Figure 9).

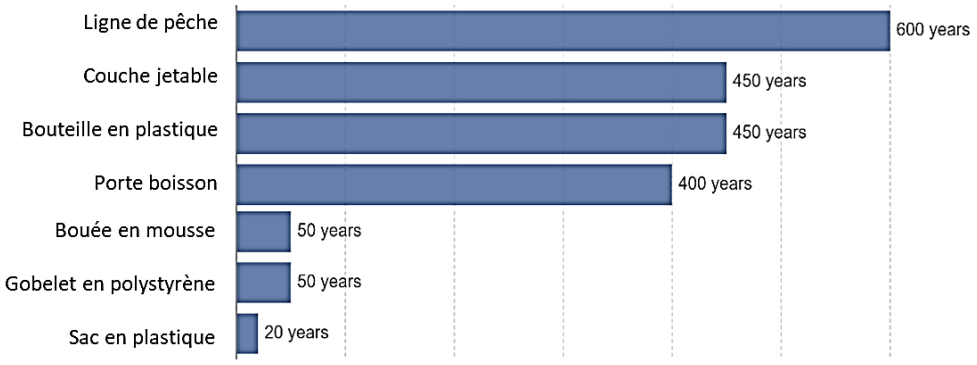


***Figure 9. Temps de décomposition moyen des débris plastiques en mer**. Figure réalisée à partir des données (U.S. National Park Service), traitées par OECD (2022) et modifiée par M. Goulais.*

Les processus de dégradation des plastiques vont être largement dépendants des conditions environnementales en présence. En mer, les plastiques sont soumis à des contraintes conjointes de nature thermales, hydrauliques, mécaniques, photoniques et biologiques (Ali et al., 2021). La dégradation par les UVs est la contrainte la plus importante. En effet, la vitesse de photodégradation est plus rapide que celle de tous les autres mécanismes (Teuten et al., 2009).

Quelle que soit la nature des processus, la dégradation des matériaux va se réaliser à trois échelles différentes (François Galgani et al., 2020). Tout d'abord macroscopiquement parlant, des altérations mécaniques et optiques des matériaux vont être observées. Puis au niveau microscopique, les macroplastiques, les plastiques de grandes tailles, vont se fragmenter en particules plus petites par propagation des fissures dans le matériau. Enfin, à l'échelle moléculaire, la dégradation des plastiques va favoriser le relargage de nano-particules et de molécules chimiques (François Galgani et al., 2020).

Selon les classifications actuelles, les particules ainsi générées sont considérées comme appartenant à la fraction des microplastiques (MP) lorsque leur taille est inférieure à 5 mm et à celle des nanoplastiques (NP) pour les particules inférieures à 1 µm (GESAMP, 2019). Ainsi, la dégradation des macroplastiques est considérée comme la source majoritaire de MPs secondaires marins (Andrady, 2017). Aux MPs secondaires on oppose les MPs primaires qui correspondent eux à des pellets ou des microbilles de plastiques produits à des tailles inférieures à 5 mm. On trouve généralement ces MPs primaires dans les produits de beauté ou détergents abrasifs (GESAMP, 2019).

Les plastiques supérieurs à 25 mm représentent 90 à 98 % de la masse totale de plastiques en mer (Kaandorp et al., 2023). Cependant en termes de nombre de particules, ce sont les MPs qui sont largement majoritaires et ce peu importe le compartiment marin considéré (i.e : le littoral, l'eau de surface ou bien l'océan profond) (Figure 10). Cette prédominance en nombre des MPs est expliquée selon des modélisations qui estiment qu'environ 2.2 % de la totalité des plastiques supérieures à 5 mm se fragmentent chaque année en MPs. Cela représenterait 73 kilotonnes de MPs secondaires ainsi formés par an (Kaandorp et al., 2023). Ces MPs en constante production, peuvent atteindre des concentrations record comme en Méditerranée ou dans le Golfe du Bengale où le nombre de particules enregistré au km^2 dépassait parfois le million (François Galgani et al., 2020).

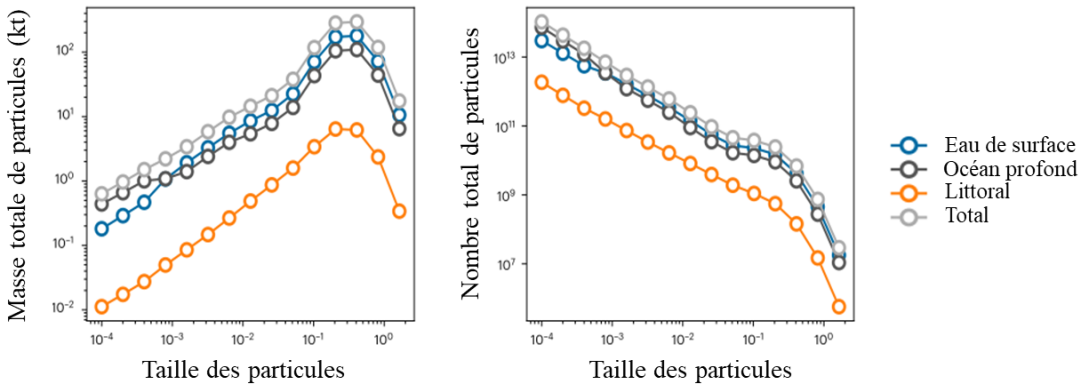


Figure 10. Distribution des particules marines de plastiques en fonction de leur taille*. La masse totale (a) et le nombre de particules (b) sont représentés pour les particules allant de 0.1 à 1 600 mm de diamètre. Les axes sont exprimés en échelles logarithmique. La figure a été adaptée de Kaandorp et al., (2023).*

La surface des océans est la zone la plus facile d'accès et donc celle pour laquelle le plus de données sont disponibles. Ainsi, il y aurait entre 269 000 tonnes et 3.2 millions de tonnes de plastiques flottants pour un nombre de particules entre 5.25 billions et un trillion selon les différentes estimations à la surface des océans (Eriksen et al., 2014; Kaandorp et al., 2023). La répartition des plastiques dans la colonne d'eau et dans le sédiment va dépendre de plusieurs facteurs tels que : la densité des plastiques et les organismes vivants se développant successivement autour des polymères (Wright et al., 2013).

Une fois dans la colonne d'eau, les MPs peuvent être transportés horizontalement par des courants océaniques et verticalement soit par gravité ou bien en entrant dans le cycle de la

pompe biologique du carbone, qui entraîne les particules organiques et inorganiques en les intégrant dans les neiges marines. Les neiges marines correspondent à des agrégats de particules organiques et inorganiques, semblables à des flocons, qui tombent lentement à travers la colonne d'eau et jouent un rôle clé dans le transport du carbone vers le plancher océanique (Porter et al., 2018). La densité des polymères joue un rôle crucial dans leur comportement de flottaison ou de sédimentation. Dans les sédiments se trouvent les polymères plus denses comme les polyesters ou les polyacryliques (77 % en moyenne) (Erni-Cassola et al., 2019). De plus, le biofouling (l'encrassement biologique en français), c'est-à-dire l'accumulation de micro-organismes et d'algues sur la surface des MPs, et les phases de décollement de ces organismes peuvent également influencer la vitesse de descente et la trajectoire des particules en modifiant leur densité et leur hydrodynamique (Lobelle et al., 2021).

1.1.7 Trois types de pollutions engendrées par la présence des plastiques

Une fois dans le compartiment marin, les plastiques interagissent avec l'environnement tant d'un point de vue physique, chimique et biologique. Les plastiques constituent par conséquent une forme singulière de pollution (Windsor et al., 2019). Ainsi l'impact des plastiques en mer sera illustré à travers trois axes de pollution : physique, chimique et enfin biologique.

1.1.7.1 Pollution physique

La pollution physique résulte de la présence de plastiques de différentes tailles et formes qui peuvent avoir des impacts au niveau macroscopique et/ou microscopique. Au niveau macroscopique tout d'abord, de nombreuses observations ont été faites relatant les dangers potentiels que la présence de plastiques peut provoquer en mer. Parmi celles-ci, des observations d'enchevêtrement de mammifères marins, de tortues, de requins, dans des engins de pêches fantômes ou bien des cas de suffocation ou d'étranglement de plusieurs espèces d'*Otariidae* (Otaries, lion de mer etc.), d'oiseaux marins, de mammifères marins, de tortues et de lamentins entrainant généralement la mort ou de graves lésions pour les animaux marins concernés (Law, 2017). L'interaction par contact entre des débris plastiques et les organismes marins peut également se traduire par l'abrasion des tissus ou des cassures d'organismes

sessiles comme les coraux, les herbiers marins ou bien la faune benthique (Law, 2017). La présence de particules synthétiques dans l'eau peut également perturber le comportement de nage de certain animaux comme cela l'a été rapporté pour du plancton par De Felice et al., (2019).

Il est aussi possible que les animaux ingèrent des déchets plastiques. Les fragments de plastiques absorbés sont généralement de petites tailles mais des plastiques pouvant aller jusqu'à 1,2 m ont déjà été retrouvés dans des intestins des baleines à bosse *Megaptera novaeangliae* (Besseling et al., 2015). Dans une revue scientifique réalisée en 2020, Peng et ses collaborateurs font état des caractéristiques des microplastiques expliquant leur fréquente ingestion par des animaux marins (Peng et al., 2020). Les plastiques ne vont cesser de se fragmenter lors de leur dégradation dans le compartiment marin. La vaste gamme de tailles de particules ainsi générées, va par erreur pouvoir être ingérée par des animaux les confondants avec leurs proies habituelles. La densité des particules joue également un rôle dans la capture des plastiques. Les particules de faible densité flottant à la surface et dans la colonne d'eau sont biodisponibles pour les organismes filtreurs et suspensivores alors que celles de forte densité coulent et se font manger pendant leur descente ou bien lorsqu'elles arrivent sur le plancher océanique. Leur variété de couleurs peut également duper certains prédateurs qui les prennent pour leurs mets favoris. Enfin leur abondance parfois extrêmement importante, augmente nettement la probabilité pour les animaux de capturer une particule de plastique plutôt que du plancton (Peng et al., 2020).

Les espèces concernées par ces ingestions hasardeuses sont nombreuses et les effets sont divers. Des particules de plastiques ont déjà été identifiées dans des estomacs de nombreux animaux. Du plus gros au plus petit, on a retrouvé des plastiques dans de grands animaux filtreurs comme des baleines (Fossi et al., 2014), des tortues (Awabdi et al., 2013; Caron et al., 2018) ou encore des oiseaux marins. Les oiseaux sont particulièrement touchés par ce fléau, en effet on estime que 44 % des espèces d'oiseaux marins sont affectées par les déchets plastiques dans le monde (Moore, 2008). De plus, la présence de microplastiques a largement été documentée chez des espèces de plus bas niveaux trophiques comme les poissons (Alomar et al., 2017; Bessa et al., 2018; Jabeen et al., 2017; Morgana et al., 2018) mais également chez les moules (Li et al., 2019), huîtres, crabes (Waite et al., 2018), crevettes (Devriese et al., 2015) ou encore dans le zooplancton comme les daphnies (*Daphnia magna*) (Rehse et al., 2016). L'ampleur de ce

phénomène est telle que l'analyse de poissons pêchés au large de la côte portugaise a fait état de près de 20 % des poissons contaminés par des MPs (Neves et al., 2015). Les contaminations en MPs identifiés chez ces animaux peuvent provenir d'une ingestion directe ou indirecte par consommation de proies contaminées. En effet, les particules de plastiques mangées par les animaux des bas niveaux trophiques vont s'accumuler et se déplacer le long de la chaine trophique du bas vers le haut (Avery-Gomm et al., 2018; Xiong et al., 2018). Etant au bout de la chaine alimentaire, l'Homme n'est pas épargné par ce phénomène (Barboza et al., 2018). Des MPs ont déjà été identifiés dans le lait maternel, dans des fèces de nouveaux nés ou encore dans des thrombus c'est-à-dire des caillots de sang humain (Ragusa et al., 2022; Wu et al., 2023; Ye et al., 2021; Zhang et al., 2021).

Bien que la présence de plastiques dans les organismes ne soit pas immédiatement et systématiquement fatale après ingestion, elle peut provoquer de nombreuses perturbations à l'échelle microscopique chez les organismes marins. La présence de MPs peut avoir des effets à plusieurs niveaux dans les organismes (Figure 11). En effet, la présence de MPs peut provoquer des dommages au niveau des tissus et cellules du système digestif et peuvent également migrer dans d'autres organes internes en provoquant des perturbations physiologiques plus ou moins graves. L'ingestion de MPs (70 µm) de polyamide (PA), polyethylène (PE), polypropylème (PP), polyvinyle de chloride (PVC) et de polystyrène (PS) ont été montrés comme responsables d'inflammation des tissus intestinaux chez des poissons *Danio rerio* (Lei et al., 2018). Dans certains cas cela peut également provoquer une diminution de l'immunité chez certains animaux comme cela a été décrit chez les vers de terre (Mark Anthony Browne et al., 2013; Green, 2016) ou encore chez les huîtres perlières, *Pinctada* (Gardon et al., 2020b). Des changements comportementaux ont été décrits après la mise en présence d'animaux avec des MPs. Après nourrissage de gobies juvéniles (*Pomatoschistus microps*) avec des nanoparticules d'or et des MPs (sphères de polyéthylène, 1-5 µm de diamètre) pendant 96 heures, une diminution de l'activité prédatrice de ces poissons a été observée (Ferreira et al., 2016). Cette modification comportementale en présence de microparticules exogènes, pourrait donc avoir des conséquences sur les taux de croissance des juvéniles et la survie de cette espèce (Ferreira et al., 2016). Aussi, l'ingestion de MPs pourrait être responsable d'une diminution de la fécondité et de la reproduction de plusieurs espèces. En 2015, une expérience d'exposition de copépodes, *Calanus helgolandicus,* à des MPs de polystyrène de 20 µm a montré des diminutions significatives de la fécondité de ces animaux (Cole et al., 2015).

Des conclusions similaires ont été tirées après exposition pendant deux jours de *Caenorhabditis elegans* à des concentrations de MPs (PA, PE, PP, PVC et PS) 5.0 $mg.m^{-2}$. L'ingestion de MPs par ces animaux a provoqué des dommages intestinaux et une augmentation du stress oxydatif ce qui a eu un impact significatif sur la reproduction, le taux de survie et la taille du corps de ces animaux (Lei et al., 2018).

En conclusion, du plancton aux baleines, tous les organismes marins semblent être affectés par la présence croissante de plastiques dans les océans. Les recherches de plus en plus nombreuses mettent en évidence un large éventail d'impacts observés, allant des niveaux moléculaires jusqu'à l'organisme entier. De plus, les animaux ne sont pas les seuls touchés par la pollution plastique : d'autres organismes, notamment les plantes, subissent également des effets délétères de la présence de microplastiques dans leur environnement. Lorsqu'ils sont incorporés par les plantes, les MPs peuvent provoquer des dommages mécaniques, réduire les taux de croissance, intensifier le stress oxydatif et potentiellement induire une génotoxicité (Jiang et al., 2019; Lian et al., 2022; López et al., 2022). L'ensemble des faits exposés concernent uniquement les dommages physiques imputés à la présence de plastiques, or comme discuté précédemment, le problème de la pollution plastique se traduit également par une pollution chimique.

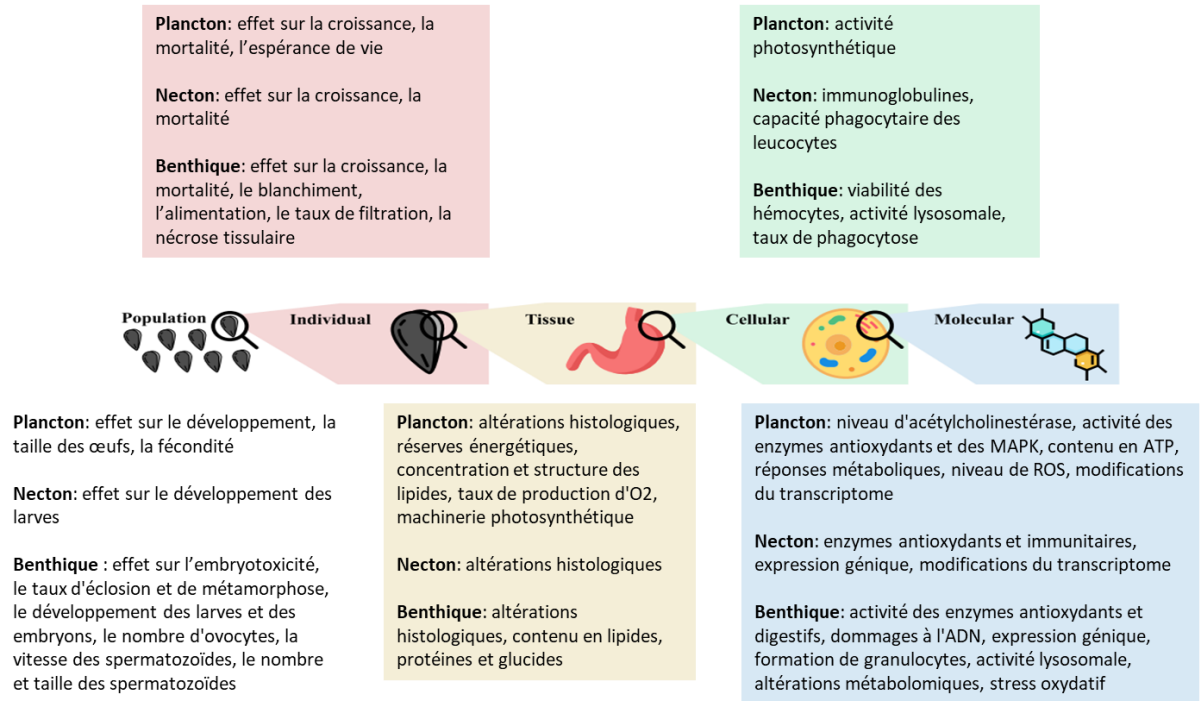


Figure 11. Compilation des effets observés de la toxicité des plastiques sur les organismes marins. *Effets recensés de l'échelle moléculaire à l'échelle de la population et ce pour le plancton, le necton et les espèces benthiques. Figure tirée de Leistenschneider et al., (2023) et traduite par M.Goulais.*

1.1.7.2 Pollution chimique

La pollution chimique se manifeste par la capacité d'absorption et de désorption des plastiques. En effet, lors de leur immersion dans le compartiment marin, les plastiques vont agir comme des éponges se gorgeant ou relarguant des substances chimiques en fonction des milieux dans lesquels ils évoluent. Cela est possible grâce à leur surface poreuse et rugueuse (Wright et al., 2013) et qui font des plastiques d'excellents sorbants pour les polluants tels que les métaux lourds et les POPs, (comme les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), les polychlorobiphényles (PCB), les polybromodiphényléthers (PBDE) ou encore le dichloro-diphényl-trichloroéthane (DDT)) les antibiotiques, et les additifs (comme les phtalates) qu'ils vont pouvoir concentrer, transférer et relarguer.

La cinétique de lixiviation de ces diverses substances chimiques dépend de nombreux paramètres. Le mécanisme d'adsorption le plus courant repose sur les interactions hydrophobes et dépend du coefficient d'hydrophobicité (Kow) du plastique et du polluant (Hahladakis et al., 2018; Luo et al., 2019; Paluselli et al., 2019). D'autres facteurs influencent également la capacité d'absorption des plastiques, en fonction des propriétés des plastiques eux-mêmes, des caractéristiques des polluants, et des conditions environnementales. Les mécanismes entrant alors en jeu incluent les interactions électrostatiques et diverses forces non covalentes, telles que les liaisons hydrogènes, les liaisons halogènes, et les interactions π-π (Fu et al., 2021).Ce phénomène est amplifié pour les petites particules qui ont un ratio surface/volume plus important et pour lesquelles les échanges avec le milieu extérieur sont considérablement augmentés (M. Cole et al., 2011).

Ces échanges de nature chimique ont déjà été soulignés entre les plastiques et le milieu aquatique ou entre les plastiques et les organismes marins. A titre d'exemple, la capacité de polymères de type PP et PE a absorbé le DDT (dichloro-diphényl-trichloroéthane), un pesticide organochloré, de sites hautement pollués a été mis en évidence par Karapanagioti et al., (2011)

alors que la possibilité de désorption d'additifs de ces mêmes polymères par lixiviation dans de l'eau de mer pendant 24 et 120 heures a été quantifié par Gardon et al., (2020)a. Dans une expérience de mise en contact de vers de sable avec du sédiment contaminé en MPs de PVC imprégnés d'additifs, il a été mesuré que les MPs une fois ingérés par les vers ont transférés leurs substances chimiques dans les tissus des animaux causant une hausse de la mortalité jusqu'à 55 % (Karapanagioti et al., 2011). Autre exemple, le poisson médaka japonais, *Oryziaslapites*, nourri pendant une courte durée avec des fragments de polyéthylène vierges et vieillis dans le milieu marin, a montré une bioaccumulation de polluants chimiques (HAP, PCB et PBDE), des signes de stress hépatique et la formation précoce de tumeurs (Rochman et al., 2013). Des simulations en laboratoire ont montré que le taux de désorption des polluants organiques persistants contenus dans les microplastiques (PVC et PE) dans des conditions physiologiques proches de celles retrouvées dans des intestins (avec des tensioactifs intestinaux et un pH de 4) était 30 fois plus élevé que dans l'eau de mer seule (Bakir et al., 2014).

En outre, bien qu'il ait été démontré que les polluants concentrés sur les microplastiques pouvaient être transférés aux niveaux trophiques supérieurs, jusqu'à l'Homme, via la consommation d'aliments et d'eau (Vandermeersch et al., 2015), cette hypothèse reste discutée. Par exemple, Batel et al., (2016) ont montré qu'une chaîne alimentaire aquatique, reproduite artificiellement en laboratoire, pouvait transférer des contaminants associés aux plastiques, comme le benzo(a)pyrène, des nauplii d'*Artemia* sp. aux poissons (*Danio rerio*). Cependant, l'ampleur du rôle des MPs dans le transport des produits chimiques toxiques à travers les différents niveaux trophiques n'a pas encore fait l'objet d'un consensus scientifique (W. Wang et al., 2019).

De plus, l'idée d'utiliser des additifs comme traceurs de la pollution plastique dans les organismes marins reste controversée. Bien que Baini et son équipe en (2017) aient proposé que les niveaux de phtalates détectés dans la colonne d'eau en Méditerranée, ainsi que dans les échantillons de plancton et dans les graisses de quatre espèces de cétacés, montrent une corrélation, cette approche présente des limites. Les phtalates, utilisés comme plastifiants dans les plastiques, sont également présents dans d'autres matériaux et sont rapidement lessivés de l'environnement, ce qui complique leur utilisation comme indicateurs fiables de la pollution plastique (Paluselli & Kim, 2020).

Cependant certains additifs relargués par les plastiques, comme les phtalates, ou les pesticides comme l'acétochlore, le métolachlore, le chlorpyrifos, sont souvent mis en cause comme perturbateurs endocriniens. Ils peuvent provoquer des retards de croissance, des perturbations hormonales (comme une féminisation des individus mâles chez certaines espèces ou des effets sur la reproduction et la fécondité), des effets cancérigènes, des malformations ou des taux de mortalité accrue des organismes marins (Gardon et al., 2020a; Mai et al., 2013; Stara et al., 2019; L. Zhang et al., 2023).

1.1.7.3 Pollution biologique

L'impact biologique de la présence de plastiques dans l'eau est un domaine d'étude récent encore ponctué de nombreux points d'interrogation. Ces préoccupations font suite à des observations concernant les communautés retrouvées à la surface des débris plastiques. Parmi l'ensemble des animaux, végétaux, champignons, bactéries et virus composant la plastisphère, le caractère invasif ou pathogène, de certaines espèces identifiées sur les plastiques, a amené la communauté scientifique à se poser des questions concernant les implications potentielles des plastiques dans une pollution de nature biologique des océans.

En effet, une fois en mer les débris plastiques sont des supports colonisables pour de nombreux organismes, on appelle ce phénomène « l'effet radeau » (Dussud et al., 2018; Haram et al., 2023). La taille, le comportement de flottaison et la rugosité de surface des différents polymères plastiques conditionneraient la colonisation par les organismes marins (Bergmann et al., 2015). Quelques études ont comparé la colonisation de différents types de plastique. Bien qu'il n'y ait aucune preuve que le type de polymère ait un effet sur la composition du macrobiote du radeau, il a été démontré qu'il influence la composition des micro-organismes. Par exemple, Carson et al., (2013) ont trouvé beaucoup plus de bactéries sur le polystyrène que sur le polyéthylène et le polypropylène, probablement en raison des caractéristiques de surface du matériau. D'autres suggèrent que la communauté microbienne de la plastisphère est principalement façonnée par l'emplacement géographique et les conditions environnementales de l'eau de mer où réside le plastique (Muthukrishnan et al., 2019). Depuis, les rapides progressions technologiques en microscopie et en séquençage haut débit ont permis de connaitre les différentes phases successives de formation des biofilms des plastiques et de réaliser un inventaire détaillé des nombreuses espèces autotrophes et hétérotrophes se développant sur ces substrats (Du et al.,

2022). Certaines études récentes ont révélé l'omniprésence des micro-organismes sur les déchets marins. Les suspensivores sessiles semblent particulièrement bien adaptés à la vie sur des substrats artificiels solides (Rech et al., 2018).

Il faut également noter que les plastiques n'ont pas le monopole de la colonisation par les organismes marins. D'autres déchets flottants de nature anthropogéniques biotiques comme le bois, la nourriture jetée (exemple : les fruits) et l'huile ou le goudron, sont également des supports possibles aux développements de biofilms. Cependant, la disponibilité permanente de fortes densités de déchets plastiques flottants a considérablement augmenté les possibilités de radeaux pour les espèces capables de persister sur les déchets flottants abiotiques (Bergmann et al., 2015). Les plastiques flottant ainsi colonisés, sous l'action des vents et des courants, vont pouvoir transporter parfois sur de très longues distances des espèces non indigènes au-delà de leurs limites de distribution naturelle (Lewis et al., 2005) ou favoriser l'expansion des habitats des espèces invasives (Bergmann et al., 2015; Rech et al., 2018). Les invasions biologiques sont considérées comme une menace majeure pour les écosystèmes côtiers (Molnar et al., 2008).

Outre les changements de communautés pouvant être provoqués par l'exportation d'espèces non indigènes et/ou invasives, un autre problème relatif à la plastisphère se pose. Les plastiques sont également décrits comme support de prolifération et des vecteurs d'espèces pathogènes. En effet, l'identification des espèces colonisant les déchets plastiques récupérés en Méditerranée a montré que ces supports plastiques peuvent agir comme vecteurs de transport pour des microbes et des algues pathogènes, favorisant ainsi le développement de souches pathogènes et augmentant potentiellement le risque de transmission de maladies (Pasqualini et al., 2023). La vie au sein d'un biofilm est très bénéfique et peut rendre les microbes plus infectieux que lorsqu'ils vivent librement, comme cela a été rapporté pour *Vibrio cholerae*, avec des niveaux accrus de réaction métabolique et de diversité fonctionnelle (Lyons et al., 2010). Les vibrions cultivables prolifèrent rapidement lorsqu'ils sont associés à des agrégats, alors que leur nombre diminue lorsqu'ils sont cultivés dans de l'eau dépourvue d'agrégats (Sun et al., 2020). De plus, les plastiques dans l'environnement peuvent servir de réservoir et favoriser les échanges gènes de résistance aux métaux (MRG) et gènes de résistance aux antimicrobiens (ARG) ce qui va conférer aux micro-organismes de la plastisphères de résister à l'action des médicaments antimicrobiens, tels que les antibiotiques, les antiviraux, les antifongiques et les antiparasitaires. Ainsi, des bactéries résistantes aux microbes (ARB) ont été observées à des

concentrations 100 à 5 000 fois plus élevées sur certains microplastiques que dans l'eau de mer environnante (Yang et al., 2019; Y. Zhang et al., 2020).

Les vibrions, des bactéries retrouvées en abondance dans le milieu marin, sont mis en cause dans de nombreuses maladies affectant le secteur de l'aquaculture. Par exemple chez certains bivalves cultivés, comme *Crassostrea gigas*, des épisodes de mortalité massive de larves et d'adultes sont dus à la présence de *Vibrio sp* (Barbosa Solomieu et al., 2015; Beaz-Hidalgo et al., 2010; Saulnier et al., 2010). Or, les microplastiques ont été couramment détectés dans des bivalves comestibles commerciaux comme en Chine, où jusqu'à 57.2 particules de MPs par individu ont été signalées (Li et al., 2015). Sachant que les épidémies entraînent d'importantes pertes économiques dans l'ensemble du secteur de l'aquaculture à l'échelle mondiale, tout facteur pouvant augmenter les maladies est une préoccupation sérieuse.

Aujourd'hui, nous disposons enfin de la preuve que les pathogènes peuvent être transférés des MPs vers les organismes. Par marquage fluorescent, une étude a démontré expérimentalement le transfert d'*Escherichia coli* des MPs vers les tissus digestifs des coraux, fournissant ainsi des preuves directes du transfert de pathogènes via l'ingestion de microplastiques. Ces résultats illustrent le rôle des MPs en tant que vecteur de pathogènes (Rotjan et al., 2019).

Les caractéristiques particulières des plastiques entraînent des pollutions physiques, chimiques et biologiques lorsqu'ils échappent au circuit de gestion prévu et se retrouvent dans la nature. En raison de leur omniprésence et de leur grande diversité structurelle et morphologique, les plastiques représentent une menace pour une large variété d'organismes marins, provoquant des perturbations à des échelles allant de la molécule jusqu'à l'écosystème. De plus, il a été démontré que les microplastiques peuvent altérer les cycles biogéochimiques qui régissent les océans en impactant la vitesse de sédimentation de la neige marine (Cole et al., 2016; Turner, 2015). Si ces cycles sont modifiés, on peut s'attendre à des changements climatiques de grande ampleur, tels qu'une accélération du réchauffement climatique déjà en cours. Face à l'ensemble des conséquences connues, ainsi qu'à celles qui restent à découvrir, provoquées par la présence de plastiques dans la nature, il est urgent et essentiel de stopper la fuite des déchets plastiques vers le milieu marin et de mieux gérer les déchets produits par les activités humaines.

1.2 LA PERLICULTURE

1.2.1 Importance de la perliculture dans l'économie locale

La réputation des perles noires polynésiennes a depuis longtemps traversé les frontières du pays. Intemporelles et envoutantes, ces gemmes de haute qualité ont envahi peu à peu les marchés internationaux de la bijouterie (Andréfouët et al., 2012). La perliculture est aujourd'hui la seconde ressource économique de la Polynésie. A l'image d'un écosystème, la perliculture a connu une alternance de phases successives. En effet, cette filière reposant sur des êtres vivants, a atteint son apogée, s'est effondrée, et se trouve maintenant dans une phase de reprise. Or, de nombreux polynésiens dépendent directement ou indirectement de la perle. Le dernier rapport relatif à la perliculture, rédigé par l'Institut de la Statistique de la Polynésie française (ISPF), en 2021, ressence 8 157 hectares perticoles répartis sur 28 îles. Ces concessions sont distribuées entre 648 producteurs autorisés à produire des huîtres perlières et/ou des perles. On trouve l'essentiel de ces exploitations dans l'archipel des Tuamotu à hauteur de 72 %, suivi des Gambier avec 24 % et des îles Sous-le-Vent avec 4 % de la surface exploitée (Figure 13) (Rapport ISPF, 2021).

Le point culminant de ce secteur a été atteint aux alentours des années 90. En 1985, le prix des perles au gramme atteignait environ 100 $ US. En raison d'une surproduction, une diminution de la qualité des perles produites couplée à un manque de gestion et de contrôle de la distribution commerciale vers les marchés asiatiques, américains et européens, le prix au gramme s'est effondré dans les années 2000 pour atteindre 5 $ US en 2010 (Figure 12) (Andréfouët et al., 2012). Les premiers impactés furent alors les petites entreprises familiales qui durent fermer leurs exploitations. Par conséquent, le nombre de concessions a diminué drastiquement dans les Tuamotu et les Gambier.

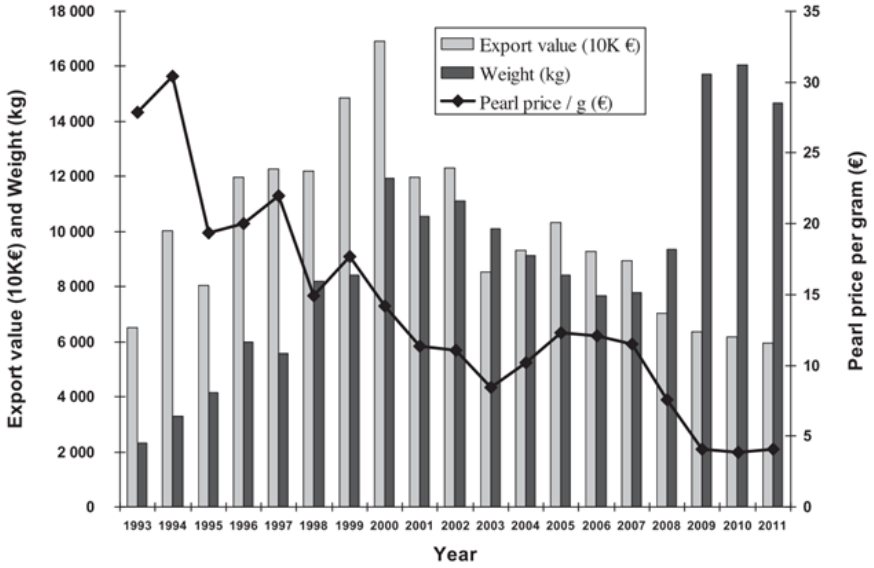
Plus récemment, comme pour beaucoup d'autres secteurs, la pandémie mondiale de Covid-19 a eu de lourdes répercussions sur la perliculture. En effet, l'impossibilité pour les greffeurs chinois de se rendre en Polynésie française, a entraîné une réduction de la production, ce qui a paradoxalement bénéficié à certains aspects du marché. Cependant, une cause majeure de la baisse du prix a été le retrait de l'obligation d'une couche de nacre d'au moins 0.8 mm, sans

application des quotas de production. Sans cette obligation, les producteurs ont récolté les perles beaucoup plus tôt, ce qui a inondé le marché de perles de moindre qualité, contribuant ainsi à une chute drastique du prix à 270 F.CPF par gramme, soit 2.43 $ US en 2020, un niveau historiquement bas (Rapport de ISPF, 2021). La reprise post Covid de l'activité s'est faite lentement du fait de la diminution de moitié de l'importation des nucléi (billes que l'on insère dans les huîtres au moment de la greffe qui une fois enrobées de nacre donneront les perles tant convoitées) en provenance du Japon et de la Chine (Rapport de ISPF, 2021). Ces différentes causes ont entraîné une baisse énorme de la production annuelle des perles polynésiennes. Une reprise progressive s'est fait ressentir en 2022. Cette même année, la Polynésie a exporté 9 tonnes de perles générant 6 milliards de F.CFP, plaçant ce secteur en deuxième place du podium des ressources économiques juste après le tourisme et devançant l'économie relative aux produits de la pêche (DRM, Statistiques 2022 : La perliculture). Mais il faudra attendre 2023 pour que le secteur perlicole sorte enfin la tête de l'eau. Le premier trimestre de cette année a enregistré une augmentation importante de 76 % des exportations comparées au premier trimestre de 2022. La perliculture en 2023 a rapporté 16 milliards de F.CPF. La valeur du prix au gramme de la perle en 2023 est aussi le plus haut enregistré de ces 15 dernières années avec 800 F.CPF soit 7.20 $ US mais encore loin des prix affichés aux heures les plus glorieuses de la perle polynésienne. Cependant ce regain économique devrait être de courte durée, selon les professionnels de ce secteur (Perle de Tahiti : après une année 2023 record, une embellie de courte durée ?).

Afin d'assurer une stabilité et une viabilité à cette activité, de nouvelles réglementations ont été adoptées en 2017. Depuis cette date, des quotas concernant le nombre de lignes immergées, le nombre d'huîtres greffées, le nombre de perles produites autorisées par hectare ont été promulgués mais réellement appliqués que depuis 2 ans. Les sanctions se sont également durcies afin d'éviter la surproduction et la mise en marché de perles de mauvaises qualités ce qui baisserait une nouvelle fois le cours de la perle.

Cependant l'avenir de la perle en Polynésie française n'est pas doré, ou plutôt nacré, car de futurs défis pèsent sur cette filière. On enregistre actuellement une pénurie de nacres dans certains atolls qui se traduit par un effondrement des stocks sauvages et un déséquilibre du sexe ratio (Andréfouët et al., 2015; Reisser et al., 2020). Ce phénomène peut être dû entre autres au réchauffement des eaux et aux diverses pressions anthropiques auxquelles les huîtres, et l'ensemble des écosystèmes, doivent faire face.

(a)



(b)

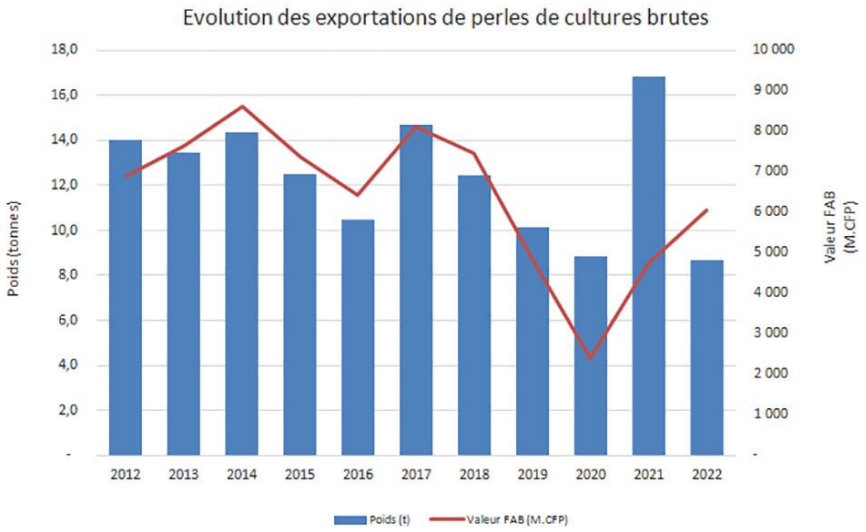


Figure 12. Evolution du prix de la perle en Polynésie française de 1993 à 2022. *(a) de 1993 à 2011, figure tirée de (Andréfouët et al., 2012), (b) de 2012 à 2022, figure tirée de « Statistique 2022 : La perliculture » (DRM).*

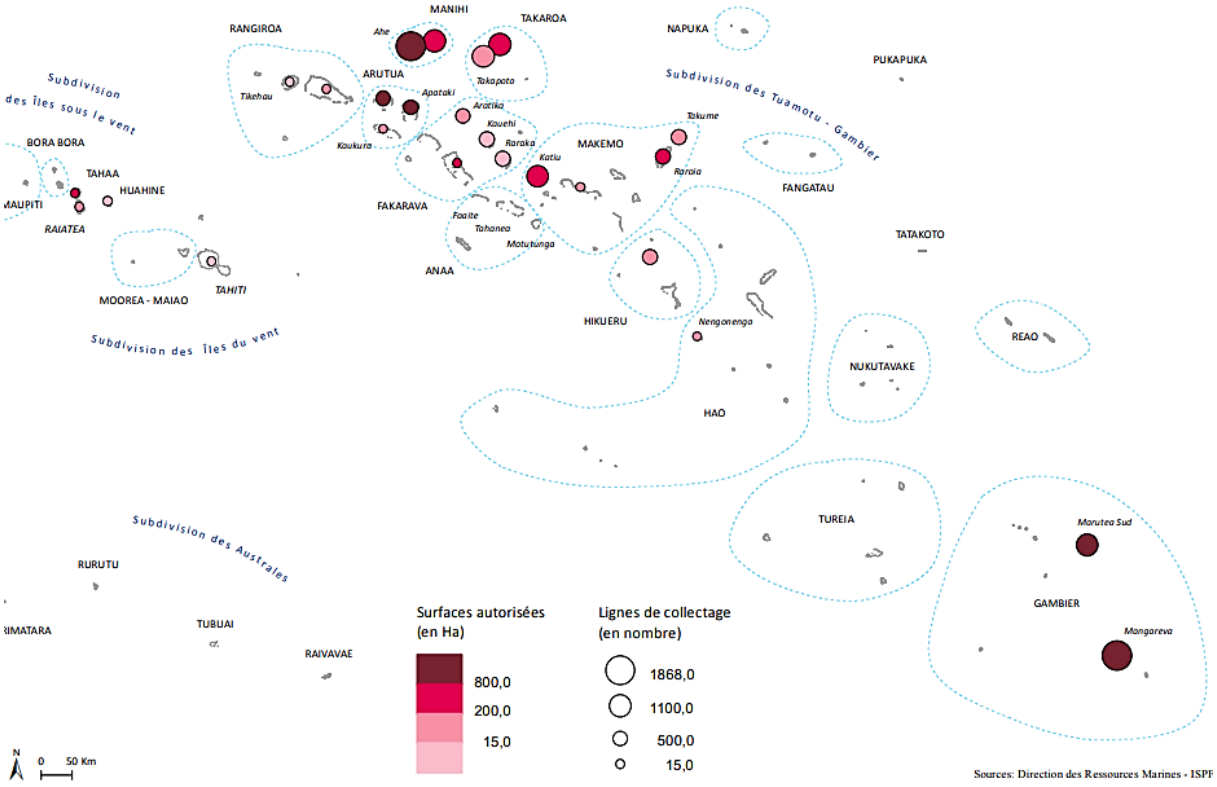


Figure 13. Répartition des fermes perlières en Polynésie française en 2018*. Carte tirée du Points etudes et Bilans de la Polynésie française n°1206 » (ISPF).*

1.2.2 Histoire de la perliculture polynésienne

118 perles égrainées au milieu de l'Océan Pacifique, c'est ce que nous évoque la beauté sauvage des îles et atolls qui composent la Polynésie française. Ces perles ou plutôt ces iles, ont de nombreux points communs tant part l'attrait et le fantasme qu'elles évoquent que par leur histoire commune. Pour les polynésiens, l'océan occupe une place essentielle dans la culture. A la fois divinité et mère nourricière, les populations locales ont toujours dû composer avec les caprices de ce milieu afin de pouvoir en extraire ses richesses les plus précieuses. La culture de la nacre puis de la perle en sont de bons exemples. Le premier manifeste du commerce d'huîtres nacrières en Polynésie, date de 1802 et aurait débuté dans l'Archipel des Gambier (Laval, 1968). Ce commerce connaîtra un essor important au 19ème et 20ème siècle avant de chuter drastiquement à partir de 1965 (Intes, 1984). A l'époque seules les coquilles d'huîtres avaient

véritablement de la valeur et servaient à alimenter le marché mondial en ressource première pour la fabrication de monture de lunettes ou de boutons principalement. Les rares perles naturelles retrouvées au moment du nettoyage des nacres, étaient souvent de petites tailles, de formes irrégulières, argentées et étaient communément appelées « Keshi » par les Japonais. (Traduction de « graines de pavot »). Cependant quelques perles à la morphologie parfaite étaient quelquefois retrouvées, les « Poe rava » (Intes, 1984).

Il faudra attendre les années 60, et l'exportation de techniques nippones, avant-gardistes en la matière, pour que les premiers essais de greffes d'huîtres perlières aient lieu en Polynésie. La première tentative de greffe d'huîtres, dans le but de produire des perles rondes, a été réalisée avec succès dans l'atoll de Hikueru en 1961. Puis, quelques années plus tard en 1968, s'ouvre la première ferme perlicole polynésienne dans l'atoll de Manihi (Andréfouët et al., 2012).

Au début de l'émergence de cette filière, les huîtres perlières sauvages de l'espèce *Pinctada margaritifera*, aussi appelée communément la pintadine (Figure 14) en référence à la pintade dont les motifs du plumage peuvent rappeler ceux retrouvés sur la coquille de cette huître, étaient récoltées grâce à la méthode dite de « la plonge ».

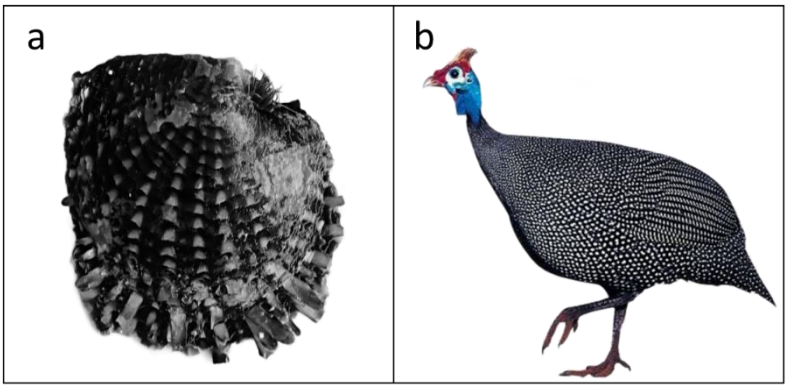


Figure 14. Comme un air de famille*. a) Pinctada margaritifera, l'huître perlière polynésienne ou pintadine marine, b) Numida meleagris, la pintade terrestre.*

Equipés de palmes, masques et de tubas, les plongeurs polynésiens les plus expérimentés étaient capables de plonger jusqu'à 40m dans les lagons afin de récupérer des individus suffisamment gros (taille atteinte vers l'âge de 3 ans environ) pour supporter la greffe. Cependant, cette technique a plusieurs inconvénients. Premièrement cela implique d'exploiter le stock naturel de

pintadine déjà largement amoindri par près de 200 ans d'exploitation pour l'exportation de nacres (Intes, 1984). Deuxièmement, les huîtres récoltées par cette méthode brutale (stress, byssus arraché, exondation, stockage des animaux dans des milieux aux conditions environnementales différentes de leur milieu de prélèvement) ont de forts taux de mortalité, les taux de réussite de la greffe se voient aussi fortement impactés et la qualité des perles récoltées n'est pas optimale. Face à ce constat, les perliculteurs préfèrent donc se tourner vers le captage des larves naturelles. Le principe est simple, il suffit d'immerger un support et d'attendre que de jeunes larves d'huître s'y fixent. Une fois que les huîtres ont atteint une taille suffisante pour être récoltées, on les décroche et les place dans des paniers ou sur des chapelets afin qu'elles grossissent. Des essais de captage datant de la fin du 19ème siècle avaient montré de bons résultats en utilisant des branches de « Mikimiki », *Pemphis acidula*, arbuste littoral très répandu en Polynésie, assemblés en fagots. D'autres essais avaient suivi en passant à la chaux, puis en enveloppant ces branchages de toiles goudronnées pour leur conférer plus de résistance. Ces essais reprirent dans les années 70 face à la demande accrue de *Pinctada margaritifera*. Le Service de la Pêche lance donc en 1976 un programme de captage de naissains dans les Tuamotu en utilisant principalement les fagots de « Mikimiki » ou de « Uu » (*Surina maritima*) (Figure 15).

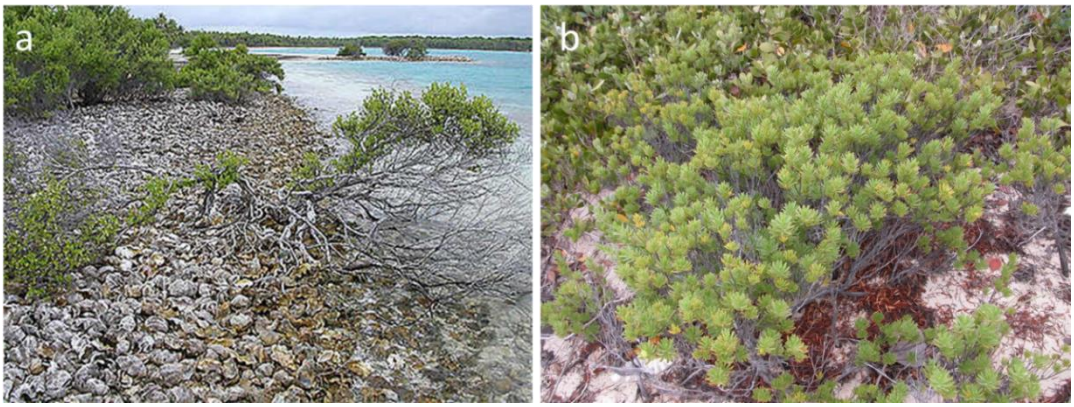


Figure 15. Sur les bords d'un atoll polynésien*. Un arbuste de (a) Pemphis acidulaaussi appelé «Miki miki » et (b) Surianamaritima, buissons originellement utilisés pour capter les naissains d'huîtres perlières.*

De part ces caractéristiques environnementale et écologique particulières, un lagon presque totalement fermé et une population sauvage d'huîtres importantes, Takapoto s'impose comme

le fournisseur principal de naissains et en exporte dans les atolls des Tuamotu (Intes, 1984). Par la suite d'autres matériaux vont faire l'objet de tests pour le captage des huîtres. L'utilisation de collecteurs (matériaux immergés servant de support à la fixation des larves d'huîtres) en matières diverses telles que des tissus en fibres naturelles (comme les fibres de cocos) ou bien des matériaux synthétiques comme des déchets plastiques (sandales, filets, film), va alors voir le jour. Les matériaux naturels biodégradables vont donc peu à peu laisser place à des matériaux plastiques offrant une meilleure résistance dans le temps et un coût à l'achat bas (quoique toujours plus cher que des branchages naturellement présents sur un atoll). Un fléau, qui ne va cesser de prendre de l'ampleur dans le temps, vient donc de poindre le bout de son nez en Polynésie : l'utilisation massive de plastiques dans les installations perlicoles.

1.2.3 Impacts de la perliculture

1.2.3.1 Estimation de la quantité des déchets historiques dans les atolls perlicoles

Plusieurs décennies d'utilisation massive de matériaux plastiques couplées à une mauvaise gestion des déchets générés ont peu à peu conduit à une pollution plastique de grande envergure des atolls perlicoles polynésiens. Cette prise de conscience a été initiée par une expédition scientifique dans l'atoll de Ahe (archipel des Tuamotu). Lors de cette mission de terrain, Andréfouët et son équipe ont alors pu réaliser un inventaire des équipements délaissés par les fermes perlières en faillite. 47 sites dans le lagon de Ahe, à l'intérieur et à l'extérieur de concessions perlicoles, ont alors été explorés. Une vingtaine d'équipements de natures différentes ont alors pu être répertoriés. Près de la moitié des sites étaient impactés par la présence de déchets perlicoles et ce en dehors même des limites des concessions aquacoles définies (Andréfouët et al., 2014). Cette première preuve de l'impact négatif de l'activité perlicole sur le paysage des lagons polynésiens interpelait ouvertement les politiques publiques du pays à prendre les devants pour organiser des campagnes de nettoyage des lagons et sensibiliser les perliculteurs à gérer correctement les déchets produits.

Une vaste campagne d'estimation de la quantité de déchets immergés produits par les activités perlicoles a alors été initiée par la DRM (Direction des Ressources Marines) entre 2014 et 2018.

Les atolls visés par cette évaluation étaient : Takaroa, Ahe, Manihi, Raroia, Takume et Takapoto. Ces campagnes d'estimation ont permis de mettre en évidence la présence de nombreux déchets perlicoles dans l'ensemble des lagons évalués. Cependant, ces estimations ont rencontré diverses contraintes techniques et logistiques. En effet, la surface totale des lagons étant trop vaste, les études de quantification ont été réalisées sur une surface partielle du lagon. De plus, en raison de la présence de nombreuses lignes immergées disposées de manière anarchiques et non répertoriées, les équipes n'ont pu immerger les sonars qu'entre 1 et 4 m sous la surface de l'eau au risque de perdre ou d'emmêler les appareils de mesure dans les cordages perlicoles. La plupart des estimations de déchets perlicoles réalisées et présentées dans le Tableau 1 ci-dessous, ne rendent compte que de la fraction de déchets présents dans la colonne d'eau (bouées coulées, lignes abandonnées etc.).

De plus, mise à part pour l'atoll de Takaroa, où une estimation totale de la quantité de déchets a été extrapolée pour l'ensemble du lagon, s'élève à presque 3 800 tonnes, aucune donnée totale de quantité de déchets présents dans ces lagons n'a été réalisée. Pour l'ensemble de ces atolls, on s'attend donc à une quantité de totale de déchets bien supérieure aux chiffres énoncés ci-dessous.

Cependant la pollution des déchets perlicoles ne concerne pas uniquement les lagons, mais est également observable à terre (Figure 16). Il est important de prendre en compte cette fraction de déchets qui en cas de pluie, de vent, ou de houle est susceptible de retourner dans les eaux du lagon. C'est pourquoi en 2019, la DRM s'est employée à répertorier les déchets à terre pour les atolls de Arutua, Manihi, Ahe, Takapoto et Takaroa (Tableau 2). Sur place ils ont pu constater que la plupart des déchets étaient régulièrement enfouis ou brulés de manière sauvage et non autorisée. Pour les déchets toujours observables à terre, plusieurs catégories et estimations du volume de chaque catégorie de déchets ont été réalisées. Les déchets de type 2 et 3 correspondaient aux plastiques de types polypropylène et polyéthylène ainsi que les ABS (Acrylonitrile Butadiène Styrène) (Etude d'évaluation du stock de déchets perlicoles à terre – Lot 1 et Lot 2 – Juin 2019).

***Table 1. Récapitulatif des quantités de déchets immergés estimées dans les atolls perlicoles**. Etude réalisée par la DRM entre 2014 et 2018. Données tirées des rapports de mission transmis par la DRM.*

Ile	Date campagne	Techniques uilisées pour l'estimation des déchets sous marins	Limites rencontrées	Surface totale analysée (ha)	Types de déchets répertoriés	Quantité de déchets observée (Tonnes)	Quantité de déchets totale extrapolées à l'ensemble du lagon (Tonnes)
Takaroa	2015	Plongée sous-marine (2 plongeurs + scooter sous-marin)	NA	63.4	Sacs de sables, lignes, cordes, collecteurs	138.8	3 763
Ahe	2017	Détection accoustique par sonar latéral + ROV (Robot sous-marin contrôlé à distance) permet détection d'objets sur le fond et la colonne d'eau	Sonar n'a pas pu être immergé à plus de 4m de pronfondeur car présence de nombreuses lignes en susbsurface risque d'accrochage dans les lignes	1 204	Corps morts, cordes, bouées, collecteurs, paniers, grillages, support acier, nylons	175.7	NA
Manihi	2017	Plongée sous-marine et Sonar accoustique	Lagon trop profond, estimation seulement dans la colonne d'eau	288.2	Lignes, armatures métalliques, piliers, bouées, sacs, paniers, fers	38.8	NA
Raroia	2018	Sondeur multifaisceau	Estimation seulement dans la colonne d'eau, trop de déchets risque de perdre les instruments	5 392	NA	100.3	NA
Takume	2018	Sondeur multifaisceau	SMF moins de 1m de tirant d'eau, pas possible de détecter les déchets sur le fond	736.5	NA	30.3	NA
Takapoto	2018	Sondeur multi faisceau	SMF moins de 1m de tirant d'eau, pas possible de détecter les déchets sur le fond	5 694.1	NA	432.3	NA



Figure 16. Déchets perlicoles observés à Takaroa. *(a) Cordes et collecteurs laissés à l'abandon dans le lagon, (b) ou sur les plages, (c) amas de bouées cassées sur la plage. Crédit photos Vetea LIAO, « Rapport global 2019, lagon Takapoto » réalisée par la DRM.*

Table 2. Etude d'évaluation du stock de déchets perlicoles à terre. *Etude et tableau réalisée par la DRM. En rouge sont encadrés les types de déchets correspondant à des déchets plastiques.*

Volumes	ARUTUA	MANIHI	AHE	TAKAPOTO	TAKAROA	TOTAL	TOTAL COLLECTABLE
Type 1 : Panneau solaires, bateries, piles, pots de peinture...	31	29	87	5,5	37	189	189
Type 2 : Plastiques polypropylène et polyéthylène (cordage, ombrières, collecteurs, grillage plastique, panier) / mélangés	367	290	1045	32,5	996	2730	2730
Type 3 : Plastique ABS (Bouées), Bouées noires en polyéthylène	17	54	136	36,5	175,5	418	418
Type 4 : Ruines (pilotis, tôles) reste de "fare greffe" hors bois, à terre	220	1133	83	0	143,5	1579	
Type 5 : Reste de "fare greffe" sur le lagon	573	537	1237	90	584	3021	
Type 6 : Déchets variés diffus	251	734	513	18	179	1695	1695
Type 7: Mécanique, véhicules, moteurs				3,5	305	309	
Type 8: Coquilles de nacres				188,5	1237	1426	
TOTAL (m3)	1459	2776	3099	375	3657	11365	5032
TOTAL Collectable (par atoll)	666	1106	1780	93	1388	5032	

1.2.3.2 Estimation des quantités de déchets nouvellement produits annuellement

Plus récemment, des travaux réalisés par Crusot et al., (2023) ont portés sur l'estimation annuelle de déchets produits dans les fermes perlicoles d'atolls en Polynésie. Cette étude révèle que la quantité et le type de déchets produits par atoll dépend du nombre de concessions et des différentes pratiques préférentiellement réalisées dans ces mêmes atolls. Les matériaux inventoriés sont de plusieurs natures telles que des collecteurs, des cordes, des bouées, du grillage, des sacs d'encrage, des fils en nylon, des cages, des chapelets ou des kangarous (Figure 17) et sont tous exclusivement composés de polymères plastiques. Les différentes pratiques recensées sont : le collectage de naissains d'huîtres, le grossissement des animaux récoltés jusqu'à leur greffe ou bien le grossissement des animaux greffés. Chacune de ces étapes cruciales avant l'obtention de perles de culture, nécessite donc des matériaux spécifiques.

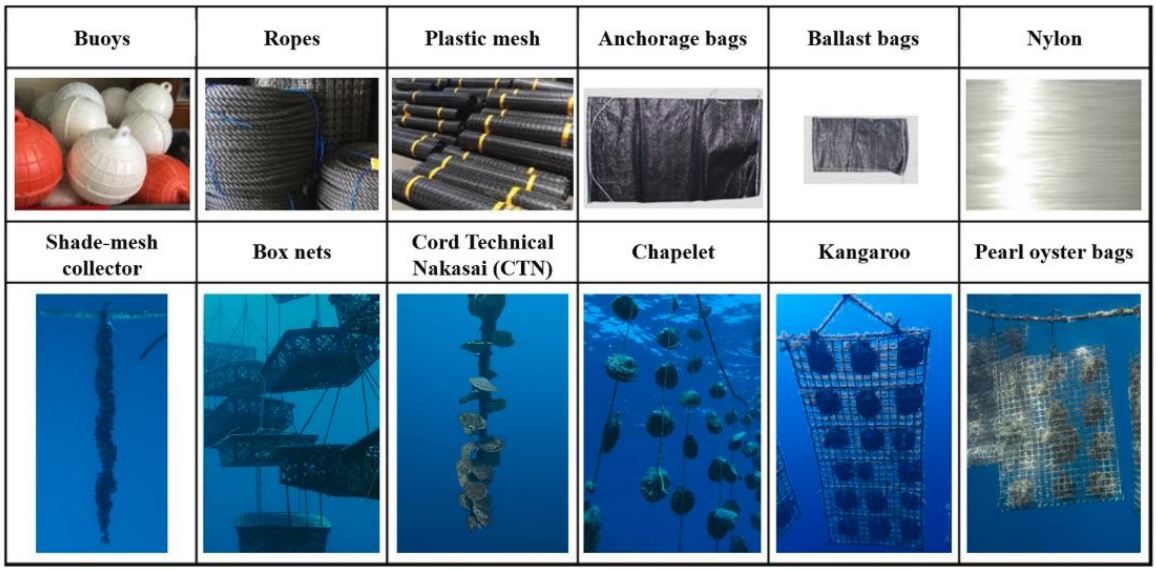


Figure 17. Les différents types de matériaux plastiques rencontrés dans les fermes perlières en Polynésie française. *Figure tirée de Crusot et al., (2023).*

Ainsi un atoll comme Mangareva (Archipel des Gambier) qui est à la fois un atoll producteur d'huîtres et un atoll producteur de perles, produit chaque année 369 ± 58 tonnes/an de déchets perlicoles dont la plus grande portion correspond à des cordes essentielles pour la confection de lignes auxquelles sont suspendues les huîtres. Takapoto (Archipel des Tuamotu) par contre a une activité perlicole basée majoritairement sur le collectage de larves d'huîtres, et totalise

chaque année 39.4 ± 3.4 tonnes/an de déchets correspondant aux items plastiques de collecteurs, de cordes et de bouées. Enfin cette étude a estimé à 217 ± 19 tonnes/an de déchets produits à Arutua (Archipel des Tuamotu) qui est l'un des principaux atolls producteurs de perles en Polynésie française avec 27 % des perles produites en 2019. A l'échelle globale de la Polynésie française c'est près de 1 603 tonnes de déchets plastiques qui seraient annuellement produits uniquement par les secteurs perlicoles (Crusot et al., 2023).

Que deviennent les déchets plastiques produits nouvellement ? Rejoignent-ils les amas déjà conséquents de déchets tapissant des lagons ou bien se retrouvent-ils sur les motus en attendant leur incinération ou leur enfouissement ? Ou alors sont-ils transportés vers des centres de gestion de déchets assermentés ? A l'heure actuelle il n'existe aucune filière de gestion de déchets qui soit établie et efficace à grande échelle. Ainsi des préoccupations populaires commencent à se faire entendre. Les habitants de Takaroa par exemple, mettent en cause, depuis quelques années, la présence abondante et anarchique de stations de collectage dans leur lagon comme l'une des causes de l'effondrement du collectage de naissain observé dans cet atoll depuis 2013. Le manque de contrôle des autorités compétentes a généré des abus quant à l'utilisation du domaine public maritime. On parle parfois de plusieurs centaines de stations de collectage mises à l'eau par perliculteur (Rapport de repérage et d'évaluation des déchets immergés à Takaroa, DRM, 2015). Ce constat nous amène à considérer et à évaluer le potentiel de toxicité de ces matériaux afin d'anticiper leurs conséquences aux niveaux individuel et écologique.

1.2.4 Impacts des plastiques perlicoles sur les nacres : mise à mal du devenir de la perliculture ?

A l'instar de l'ouroboros, cet animal mythique à l'effigie d'un serpent représenté en train de se mordre la queue, la perliculture apparaît comme acteur de sa propre perte. La présence accrue et artificielle de nombreuses nacres dans la colonne d'eau des lagons couplée à de grandes quantités de matériaux immergés en plastique, conduisent à perturber l'écologie des lagons et la qualité du milieu dans lequel évoluent les huîtres (Gaertner-Mazouni et Rodriguez, 2017). Or, ce bivalve filtreur est largement dépendant de la qualité de son milieu pour y trouver sa nourriture et se développer correctement. Ainsi, la pression exercée par la perliculture sur les milieux lagonaires serait l'une des causes évoquées par la population expliquant l'effondrement

de populations naturelles observées ces dernières décennies en Polynésie française (Rapport Takaroa, DRM, 2015). Face à ce constat, un effort accru a été réalisé en Polynésie afin de caractériser la potentielle toxicité directe des matériaux en plastique utilisés en perliculture sur les huîtres perlières. Ces études toxicologiques ont été réalisées sur la phase larvaire de *Pinctada margaritifera,* sur des individus adultes et se sont également intéressées à la potentielle implication de la présence de plastiques dans la qualité des perles de culture.

Les premières phases du développement larvaire sont les plus critiques pour le taux de survie des jeunes huîtres. Avant même la prise exogène de nourriture qui intervient après la phase D de leur développement larvaire, les larves d'huîtres sont extrêmement sensibles à la qualité de leur milieu. Des tests d'expositions d'œufs fécondés d'huîtres perlières à différents lixiviats de plastiques ont donc été imaginés au CIP afin de caractériser la sensibilité des jeunes larves face à la pollution chimique induite par la présence de plastiques dans l'eau. Ainsi des œufs fécondés d'huîtres perlières ont été exposés à des concentrations croissantes (0.1, 1, 10 et 100 g/L) de quatre types de lixiviats obtenus après 24 ou 120 heures d'immersion de cordes et collecteurs neufs ou vieillis. Après 24 h ou 48 h d'exposition le taux d'anomalie de développement, c'est-à-dire les retards de développement et la mortalité, a été relevé. Pour la concentration la plus élevée de lixiviat de 100 g/L de plastique, l'ensemble des larves exposées a montré des anomalies de développement significativement différentes de la condition contrôle. Ces résultats obtenus *in vitro,* étaient donc la première preuve de la toxicité effective des plastiques perlicoles sur le développement des larves d'huîtres perlières (Gardon et al., 2020a).

Après la phase larvaire, Gardon et al., (2024) se sont intéressés à l'impact de concentration de micro et nanoplastiques (MNPs) sur des *Pinctada margaritifera* adultes. Les animaux ont été conditionnés pendant cinq mois dans des bacs concentrés de 0, 0.025 ou 1 $\mu g.L^{-1}$ de MNPs obtenus à partir de cordes et collecteurs perlicoles usés. Après deux mois de stabulation ces huîtres ont été greffées. De part une approche transcriptomique et l'étude de paramètres intégratifs, cette équipe a ensuite cherché à mettre en lumière les fonctions impactées par ces concentrations de MNPs. Les résultats ont montré une diminution significative de l'efficacité d'assimilation des huîtres à 1 $\mu g.L^{-1}$ de MNPs, et une diminution significative des réserves énergétiques pour les huîtres à 0.025 et 1 $\mu g.L^{-1}$ de MNPs. Ces modifications métaboliques étaient corrélées à une hausse de l'expression de gènes du manteau liés à la production et à la conversion d'énergie ce qui met en évidence une réponse bioénergétique hypothétique visant à

protéger les cellules contre un stress oxydatif. La présence de MNPs même à faible dose a donc provoqué des modifications chez les huîtres à l'échelle moléculaire, cellulaire et individuelle.

Concernant la qualité des perles produites lors de cette expérience (Gardon et al., 2024), un nombre significativement supérieur de keshis, qui est le résultat d'un rejet du nucléus greffé produisant une perle qui n'est pas ronde et souvent à plus faible valeur économique ajoutée, a été obtenu pour les huîtres conditionnées à 1µg.L^{-1} de MNPs. En outre, un MNP, provenant des plastiques vieillis perlicoles, a été identifié dans la maille de cristallisation d'aragonite d'un keshi. L'évaluation de la qualité des perles a révélé des effets significatifs de l'exposition aux MNP sur la microstructure de la nacre perlière, impactant particulièrement les cristaux d'aragonite et entraînant des plaquettes d'aragonite plus fines à 1 µg L-1 de MNP. Ces observations font échos aux travaux de Han et al., (2022) qui ont identifié 1.95 ± 1.43 MPs/g dans les coquilles et 0.53 ± 0.37 MPs/g et dans les perles produites par *Pinctada fucata* après exposition pendant 96 heures à des concentrations de MPs de 0.2, 0.5 et 1 g/L de MPs. Ces contaminations observées de perles par des MNPs et cet amincissement de la couche d'aragonite vont probablement conduire à une diminution de la valeur marchande des produits perliers.

L'ensemble de ces résultats obtenus en laboratoires, nous confirme la sensibilité des huîtres perlières face à la présence de plastiques perlicoles dans leur milieu et ce à n'importe quel stade de leur cycle de vie. Cette étude alerte également sur l'impact de la présence de MNPs sur la qualité des perles récoltées. Concernant la transposabilité de ces résultats *in situ*, des concentrations de MNPs alarmantes ont déjà été enregistrées dans les lagons perlicoles polynésiens et atteignaient jusqu'à 716 MPs.m^{-3} à Takaroa (Gardon et al., 2021). Ces résultats soulèvent donc des inquiétudes quant à l'impact potentiel à long terme sur l'état de santé des huîtres perlières ainsi que sur la pérennité du secteur perlicole en Polynésie française.

Cependant, les activités perlicoles opérant dans des milieux naturels, *quid* de l'impact des plastiques utilisés sur le reste de l'écosystème ? Certaines inquiétudes ont déjà été émises à ce sujet en Polynésie (Andréfouët et al., 2014; Gaertner-Mazouni et Rodriguez, 2017) mais déplorent le manque d'observations et de recherches concernant le potentiel impact des installations en plastiques des fermes perlières sur la méga-faune, les habitats coraliens et plus généralement sur l'ensemble des organismes marins peuplant les lagons.

1.3 LES ESPECES BIOINDICATRICES DE POLLUTIONS PLASTIQUES MARINES

La pollution environnementale par divers polluants anthropiques fait partie des préoccupations majeures actuelles et mondiales. La présence de certains de ces polluants est cependant perceptible par des indicateurs biologiques. L'une des pistes développées ces dernières années a donc été l'étude du potentiel de certaines espèces à être de bons bioindicateurs de la contamination d'un milieu pour un polluant ou une catégorie de polluants donnée. Pour être un bioindicateur fiable, les espèces sélectionnées doivent répondre à plusieurs critères. Tout d'abord une espèce bioindicatrice doit être présente sur une large zone de distribution, avoir un cycle biologique bien connu. Les individus doivent idéalement être limités à une zone précise et définie, avoir une réaction uniforme à un polluant, et les effets toxiques liés au niveau de pollution de cette espèce doivent être identifiés (Li et al., 2019). Concernant plus spécifiquement la pollution plastique, les organismes les plus souvent cités sont des bivalves (Khanjani et al., 2023), des poissons (Collard et al., 2017), des oiseaux marins (Van Franeker & Law, 2015), des tortues marines (Duncan et al., 2017) ou encore des coraux (Hall et al., 2015). Dans la majorité de ces travaux la contamination en plastique de ces animaux est estimée en fonction de la quantité de MNPs retrouvés dans les chairs des organismes, donc en fonction de la pression de pollution physique induite par les plastiques.

Pour aller plus loin, il s'agit à présent d'identifier des espèces capables de retranscrire fidèlement l'état de pollution en plastiques d'un milieu. Cette évaluation peut se faire soit par une corrélation directe entre la quantité de microplastiques retrouvés dans les organismes et la concentration de MPs dans leur environnement, soit indirectement en mesurant avec précision la variabilité de paramètres biologiques (à l'échelle moléculaire, cellulaire, individuelle ou de la population) chez les organismes in situ, afin d'estimer l'état de contamination plastique dans leur milieu. La seconde option nécessite une phase de l'étude en laboratoire en conditions contrôlées (Gardon et al., 2018, 2020b; Rochman et al., 2013).

En ce qui concerne l'étude de la corrélation, la quantité de MPs du milieu versus retrouvée dans les organismes, les bivalves a fait l'objet de nombreuses recherches (Khanjani et al., 2023). En effet, la plupart de ces animaux étant strictement sessiles, ils offrent l'avantage d'être inféodés à un milieu fixe (Li et al., 2019). La pollution en MPs enregistrée dans ces animaux dépend

donc du milieu environnant direct (Ward et al., 2019). Ces animaux filtreurs filtrent de grandes quantités d'eau afin de capter leur nourriture (Stéphane Pouvreau et al., 1999). De plus, il a été démontré que les gammes de tailles de MPs sont similaires aux phytoplanctons normalement ingérés par les bivalves (Browne et al., 2008). Une fois ingérées, les MPs peuvent pénétrer dans l'organisme, être excrétées dans les fèces, s'accumuler dans l'intestin ou être transférées dans le système circulatoire des mollusques exposés à travers la paroi intestinale (Browne et al., 2008; Sharifinia et al., 2020). Ce mode d'alimentation les rend extrêmement sensibles à la qualité de leur environnement et en font par conséquent des sentinelles privilégiées souvent utilisées pour l'évaluation de la qualité des milieux marins.

Grâce à leurs caractéristiques particulières, les bivalves font figure de candidats parfaits pour l'évaluation de la qualité de milieux impactés par la présence de plastiques. Cependant, l'étude unique de la quantité de MPs accumulés dans les chairs d'animaux ne permet pas de se rendre compte de l'ensemble des impacts induits par la présence de plastiques dans le milieu comme les pollutions chimique et biologique évoquées précédemment. Ainsi pour réaliser une évaluation exhaustive de la qualité d'un milieu il faudrait choisir plusieurs espèces pour obtenir une image plus complète de la pollution plastique dans un écosystème donné mais également prendre en compte l'impact de la pluralité des pollutions engendrées par la présence de plastiques dans les océans. Enfin, on déplore actuellement le peu d'espèces bioindicatrices adaptées au contexte tropical (DCSMM). Ce dernier élément est également à améliorer si l'on souhaite pouvoir suivre en temps réel l'état de contamination en plastiques d'environnements tropicaux.

2 DEVELOPPEMENT DE TESTS TOXICOLOGIQUES LARVAIRES ADAPTES AUX ESPECES TROPICALES

2.1 PREAMBULE

Immédiatement après leur immersion dans l'eau, les plastiques vont commencer à émettre des additifs qui, hors de rares exceptions, ne sont pas liés chimiquement avec les polymères et vont ainsi être lixiviés et se retrouver dans le milieu aqueux (Teuten et al., 2009). Ce relargage d'additifs se poursuivra tout au long de la vie sous-marine des plastiques avec néanmoins des différences en termes de cinétiques et de composition au fur et à mesure du vieillissement du plastique (Hahladakis et al., 2018; Luo et al., 2019; Paluselli et al., 2019). Cependant, certains de ces additifs font partie de la liste de contaminants émergeants qui présentent de potentiels risques pour l'environnement et la santé animale et humaine (Wagner et al., 2024).

Dans le cas précis de la perliculture, il faut savoir que les conditions tropicales induisent un vieillissement important des matériaux (UV, température élevée, couplée à une forte activité biologique). Les perliculteurs sont donc contraints de renouveler régulièrement leurs installations lorsqu'elles sont trop fragilisées (Crusot et al., 2023). Nous ne disposons malheureusement que de maigres éléments concernant l'ampleur de la quantité de plastiques nouvellement immergée chaque année et de la proportion de plastiques actuellement en

immersion dans les différents lagons perlicoles. Cependant, des données fournies par la DRM nous permettent de connaître le nombre de nouvelles stations autorisées en 2024 par atoll (Tableau 3).

Une station correspond à une ligne en corde (PE et PP) de 200 m sur laquelle peuvent être fixés jusqu'à 600 collecteurs (PE et PP) d'environ 1m de long. Ainsi en 2024, 6 727 stations ont été autorisées à l'immersion pour l'ensemble des concessions perlicoles en Polynésie française, cela correspond à un maximum de 4 036 200 collecteurs pour un poids unitaire d'environ 78.2 ± 9 g soit approximativement 315.6 tonnes de plastique nouvellement immergées en considérant uniquement les collecteurs de naissains d'huîtres. Pour ce qui concerne la quantité des autres matériaux plastiques nouvellement immergés annuellement, il n'existe pas à l'heure actuelle d'estimation directe. En revanche, une étude de terrain a été réalisée par Crusot et al., (2023) afin de quantifier la quantité de déchets plastiques générés par le secteur perlicole dans trois atolls. Cette étude révèle que la quantité de déchets générée est dépendante des pratiques des perliculteurs et des spécificités propres à chaque atoll comme la présence de prédation qui peut nécessiter l'ajout de cage en grillage plastique afin de protéger les chapelets d'huîtres. Ainsi pour les 1 941.786 ha de concessions perlicoles accordées aux Gambier, environ 369 tonnes de déchets plastiques divers (avec une majorité de cordes et de bouées) sont produites annuellement. Concernant les deux atolls étudiés dans l'archipel des Tuamotu, à Takapoto (139 ha de concessions) et Arutua (1 189.630 ha de concessions) sont générées chaque année respectivement 38.9 et 216.5 tonnes de déchets plastiques dont l'essentiel correspond à des bouées, des cordes et du matériels relatifs au collectage des larves d'huîtres. Basée sur ces résultats, cette même étude estime donc à 1 603 tonnes de déchets plastiques perlicoles produits en Polynésie française annuellement (Crusot et al., 2023). Cependant ces extrapolations ne comptabilisent pas les stations immergées illégalement, ainsi la quantité de déchets annuels est surement sous-estimée.

Table 3. Autorisation et plafond de gestion accordés par la DRM en 2024. *En légende : colonne 1: surface en ha de concessions accordées, colonne 2 : surface Elevage, Greffe en hectar de concessions demandé, colonne 3 : Plafond de surface de concessions, colonne 4 : Surface fare greffe, colonne 5 : collecteurs accordés, colonne 6 : Nb de station de collage, colonne 7 : nb de collecteur à ne pas dépasser, colonne 8 : surface de collectage accordé. Tableau fournit par la DRM*

	1	2	3	4	5	6	7	8
AHE	787,900	182,630	700	0,1386	1 351	110	1 470	270
ANAA	0,000	0,000		0,0000	0	0		0
APATAKI	751,230	0,000	751	0,0518	328	0	398	66
ARATIKA	83,450	16,000	85	0,0136	125	21	315	25
ARUTUA	1 189,630	431,000	1 218	0,1621	338	27	384	68
BORA-BORA	0,300	0,000	2	0,0000		0	0	
FAAITE	15,000	40,000	7	0,0000	0	0	0	0
FAKAHINA	0,000	0,000		0,0000	0	0		0
FAKARAVA	291,730	45,000	385	0,0332	0	0	0	0
GAMBIER	1 941,786	397,540	1 500	0,4609	1 541	232	1 500	308
HAO	0,000	0,000		0,0000	0	0		0
HIKUERU	0,000	0,000	40	0,0000	0	0	45	0
HUAHINE	2,400	0,000	5	0,0100	0	0	0	0
KATIU	138,300	0,000	143	0,0060	350	0	490	70
KAUEHI	0,000	1,000	2	0,0000	25	0	55	5
KAUKURA	74,210	30,790	79	0,0180	0	0	0	0
MAKEMO	24,000	6,000	24	0,0030	0	0	0	0
MANIHI	365,940	85,000	395	0,1182	274	45	419	55
MARUTEA-SUD	486,460	0,000	634	0,0400	1 000	0	500	200
MATAIVA	0,000	0,000		0,0000	0	0		0
MOOREA	0,000	0,000	2	0,0000	0	0	0	0
MOPELIA	2,000	0,000	0	0,0000	20	0	0	4
MOTUTUNGA	0,000	0,000	0	0,0000	10	0	25	2
NENGONENGO	50,000	0,000	50	0,0150	0	0	0	0
NUKU-HIVA	0,000	0,000		0,0000	0	0		0
NUKUTEPIPI	2,000	0,000	2	0,0000	10	0	10	2
PUKARUA	0,000	0,000		0,0000	0	0		0
RAIATEA	137,940	18,000	138	0,0499	0	0	0	0
RANGIROA	113,800	0,000	113	0,0024	2	0	2	0
RARAKA	5,000	85,000	5	0,0000	20	20	30	4
RAROIA	300,000	50,000	235	0,0300	300	0	285	60
REAO	0,000	0,000		0,0000	0	0		0
TAENGA	0,000	0,000	0	0,0000	18	0	18	4
TAHAA	197,030	0,000	200	0,0387	0	0	0	0
TAHANEA	0,000	0,000	0	0,0000	5	0	25	1
TAHITI	2,000	0,000	3	0,0075	0	0	0	0
TAKAPOTO	139,000	126,000	139	0,0279	473	140	594	95
TAKAROA	292,510	58,000	323	0,0498	297	95	401	59
TAKUME	106,000	13,000	118	0,0150	240	30	298	48
TATAKOTO	0,000	0,000	0	0,0000	0	0	10	0
TIKEHAU	10,000	0,000	10	0,0060	0	0	0	0
TOAU	0,000	0,000	5	0,0000	0	0	0	0
TUANAKE	0,000	0,000	0	0,0000	0	0	0	0
TUBUAI	0,000	0,000		0,0000	0	0		0
TUPAI		0,000				0		
VAIRAATEA	0,000	0,000		0,0000	0	0		0
	7 510	*1 585*	652	1,2976	*6 727*	*720*	645	1 345

En considérant la demande et la productivité constantes entre 2023 et 2024, on peut supputer que la quantité de déchets produits va être remplacée par une quantité équivalente de plastique d'année en année. Ainsi pour 1 603 tonnes de déchets produits en 2023, une quantité équivalente de matériaux plastiques devrait être immergée au cours de l'année 2024. Cette estimation simplifiée permet d'avoir un ordre de grandeur de la quantité de nouveaux plastiques perlicoles immergés en 2024, sans prendre en considération les plastiques déjà présents dans la colonne d'eau qui continuent à être lixiviés, et du potentiel de toxicité que peut représenter la lixiviation des additifs de ces nouveaux matériaux.

Afin d'évaluer la toxicité des produits de lixiviation de plastiques perlicoles, une précédente étude a testé en laboratoire différentes concentrations de lixiviats de cordes et de collecteurs perlicoles sur le développement de larves d'huîtres *Pinctada margaritifera* (Gardon et al., 2020a). Plusieurs points ont été éclaircis grâce à ces tests. Tout d'abord, l'analyse des lixiviats obtenus à partir de plastiques perlicoles neufs et d'autres vieillis a montré des différences au niveau de leur concentration en phtalates. Les lixiviats de plastiques vieillis contenaient entre 15 et 20 fois moins de cette classe d'additif que les lixiviats de plastiques neufs ce qui laisse penser que les phtalates sont relargués en grande quantité au début de l'immersion des plastiques (Teuten et al., 2009). Par contre, la part de pesticides était plus importante dans les lixiviats de 120 heures obtenus à partir des plastiques vieillis. Ces résultats semblent indiquer une possible absorption des pesticides du milieu marin vers les plastiques agissant comme de véritables éponges (Teuten et al., 2009). Concernant la toxicité des lixiviats, tous ont montré un impact négatif significatif sur le développement larvaire des huîtres perlières pour la plus haute concentration testée (100g/L) (Gardon et al., 2020a). Ces résultats soulignent que les zones de concentration massive de matériel en activité ou abandonné dans les concessions perlicoles pourraient être des points chauds de relargages chimiques ce qui soulève la question des effets *in situ* sur les huîtres perlières (Gardon et al., 2020a). Cependant cette première preuve de la toxicité des plastiques perlicoles, peut avoir des implications à plus grande échelle. En effet, les installations perlières sont directement implantées dans les lagons en Polynésie française. Ainsi c'est l'ensemble des organismes marins lagonaires qui sont susceptibles d'être impactés par la présence de ces matériaux dans le milieu marin.

Compte tenu de ces informations, des tests complémentaires de toxicité des lixiviats de ces mêmes plastiques perlicoles paraissaient indispensables afin de renseigner la sensibilité d'une

gamme plus large d'espèces tropicales à la pollution chimique du plastique. Étant donné que les espèces tropicales sont sous-représentées dans les tests de toxicité actuels, il paraissait crucial de combler ces lacunes pour améliorer notre compréhension de l'impact environnemental de la pollution plastique perlicole sur ces écosystèmes. Nos résultats ont d'abord permis de développer des protocoles pour des tests de développement larvaire sur des organismes encore jamais étudiés. Grâce à ces tests, la sensibilité de cinq espèces tropicales aux lixiviats de plastiques perlicoles est désormais connue. Ces résultats permettent également de proposer des espèces bio-indicatrices qui pourront être utilisées dans des tests futurs pour évaluer la toxicité des matériaux plastiques avant leur immersion dans les lagons. De tels tests toxicologiques permettront d'identifier les additifs dangereux dont l'importation et l'utilisation en Polynésie française devraient être réglementées, ou pour surveiller la qualité de l'eau des lagons face au risque de pollution plastique. L'ensemble des résultats de ces tests toxicologiques est présenté dans l'article ci-dessous (Article 1) actuellement soumis dans la revue scientifique *Science of the Total Environment*.

2.2 ARTICLE ECOTOXICOLOGIE (PUBLIE) - *SCIENCE OF THE TOTAL ENVIRONMENT*

BIOINDICATOR SPECIES OF PLASTIC TOXICITY IN TROPICAL ENVIRONMENTS

Goulais M., Saulnier D., Rouxel J. and Galgani F.

Ifremer, Université de la Polynésie Française, ILM, IRD, UMR 241 SECOPOL, F-98719 Tahiti, French Polynesia, France

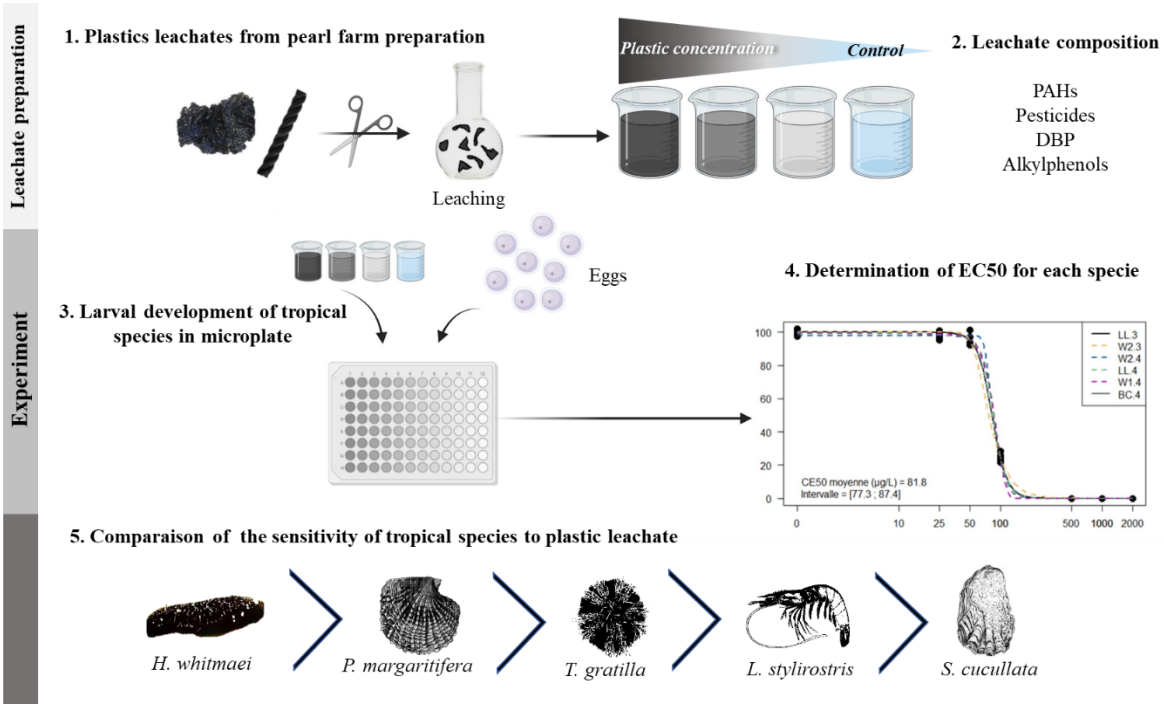
Keywords

Plastic pollution / Ecotoxicology / Leachate / Tropical species / Bioindicator / Pearl farming

Highlights

- The composition of plastic leachates used in pearl farming has been evaluated.
- We describe the first toxicity tests using a tropical sea cucumber.
- The plastic sensitivity of 5 tropical species was measured for the first time.
- Sensitivity: *H.whitmaei* > *P. margaritifera* > *T. gratilla* > *L. stylirostris* > *S. cucullate*

Graphical abstract



Abstract

In French Polynesia, pearl farming represents the second economic resource of the country. The distinctive black pearls produced there are globally recognized and appreciated. However, pearl farms extensively use submerged plastic materials. Through gas chromatography coupled with tandem mass spectrometry detection (GC/MSMS) analysis, we were able to identify various POPs (Persistent Organic Pollutants) and additives released after 24 hours of leaching into seawater from these “pearl plastics” composed of PE (Polyethylene) and PP (Polypropylene). Subsequently, we tested different concentrations of this plastic leachate on five tropical species commonly raised in the pearl and aquaculture sector in Polynesia: *Pinctada margaritifera*, *Saccostrea cucullata*, *Holothuria whitmaei*, *Litopenaeus stylirostris*, and *Tripneustes gratilla*. Monitoring the embryo-larval development of these organisms allowed us to establish a correlation between the decrease in the percentage of normal larvae and the plastic concentration. Through the use of regression models, the EC50 (Effective Concentration) of the plastic leachate for each species was determined, and demonstrated to range from 6.6 to 71.5 g/L, depending on the species. The most sensitive species was the black teatfish *Holothuria whitmaei*, a tropical sea cucumber used for the first time for ecotoxicological tests. The sensitivity of this species, its large distribution in tropical areas, and the various advantages

presented by its cultivation make it an interesting bio-indicator species for monitoring plastic pollution in tropical lagoons.

1. Introduction

Plastics are ubiquitous in modern life due to their versatility and low cost, with global production reaching a record 390 million tonnes in 2021, a 4 % increase from the previous year (Plastics Europe, 2022). Unfortunately, a portion of the produced plastic will end up in the oceans due to mismanaged plastic waste. In 2015, they estimated that between 4.8 to 12.7 million tonnes were being introduced into the oceans annually (Jambeck et al., 2015b), this quantity was revised to be between 0.8 to 2.7 million tonnes (Meijer et al., 2021) and to 0.5 million tonnes with 49 000 to 53 000 tonnes consisting of microplastics (plastic particles < 5 mm) (Kaandorp et al., 2023).

Once in the marine environment, plastics are subject to mechanical, photolytic, and biological processes that fragment them into smaller particles (Ali et al., 2021). These plastics are now present in both shallow and deep-sea sediments (Zalasiewicz et al., 2016, review in Galgani et al., 2022), marking a significant geological signature of the Anthropocene, often termed the "Plastic Age" (Rangel-Buitrago et al., 2023). The presence of plastics in marine systems induces physical, biological, and chemical pollution. Physical pollution includes macro- and microplastics that can cause harm to marine life, such as suffocation, intestinal damage or disruption of plankton motility (Laist, 1997; Gall & Thompson, 2015; Garnier et al., 2022). Biological pollution arises from plastics providing habitats for invasive and/or pathogenic species through the “raft effect” (Dussud et al., 2018; Haram et al., 2023). Finally, the third type of impact resulting from the presence of plastic in the marine environment is the release of chemicals from polymers. Indeed, upon immersion in the marine compartment, plastics will release various chemicals, including additives with kinetics that depend on numerous parameters such as temperature, salinity, pH, UV exposure, and the physical characteristics of the plastic itself (Hahladakis et al., 2018; Luo et al., 2019; Paluselli et al., 2019). Certain additives present in plastics, such as phthalates, or chemical compounds accumulated during the storage or transport of plastics (J. Wang et al., 2016), such as pesticides (acetochlor, metolachlor, chlorpyrifos), are often incriminated as endocrine disruptors. They may cause delays in growth, feminization of male individuals in certain species, as well as reproductive toxicity and carcinogenic effects (Mai et al., 2013; Guo & Wang, 2019; Stara et al., 2019; Zhang et al., 2023). More generally, among the 16 325 currently known plastic chemicals, 2 760 (16.9

%) are considered to be toxic for the aquatic environment following the EU's REACH regulation and 10 726 (65.7 %) other chemicals do not present any hazard data (Wagner et al., 2024).

At present, while the majority of studies into the toxicity of plastics have traditionally focused on microplastics or nanoplastics to highlight the physical and mechanical risks induced by the presence of these microparticles in the environment (Leistenschneider et al., 2023), there is a growing body of research investigating the chemical pollution effects generated by the leaching of plastic materials. Indeed, recent studies are increasingly exploring the toxicological impacts of chemical additives and leachates from various plastic types, including micro and nanoplastics (Li et al., 2024; Luo et al., 2022; Meng et al., 2024). Furthermore, most tested polymers are PS (Polystyrene), PE, or PVC (Polyvinyl chloride). The toxicity of PP materials is still underexplored in ecotoxicological tests, despite being the second most prevalent polymer on the ocean's surface (Leistenschneider et al., 2023).

In 2022, French Polynesia exported 9 tonnes of pearls, generating 5 billion USD. This ranks the pearl sector in the second place on the economic resources (DRM, 2022). Pearl farms are largely using plastic materials, due to their low cost, resistance, lightweight, and effectiveness in larval capture. A pearl farm is organized as follows: long lines of 200 m ropes are aligned in parallel within the hectares of the concessions. These lines are anchored by mooring blocks and supported at the surface at an average depth of 5 m by buoys. Along these lines, oysters are suspended in strings or baskets. These ropes also contain spat collectors, a kind of plastic lace used to catch oyster larvae. If there is a significant presence of predators, pearl farmers generally choose to protect their stock with mesh protection devices. Photographs of these different plastic materials are available in the article by Crusot et al., (2023). In tropical environments, plastics are exposed to higher temperatures, intense sunlight, and intense marine biological activity, having then shorter lifespans (Crusot et al., 2023). The extensive use of plastic, coupled with poor waste management practices, has made pearl farming one of the identified sources of macro and microplastic litter (Andréfouët et al., 2014). Estimates of the amount of waste in pearl lagoons by the local management bodies (DRM, 2015) revealed high concentrations of plastics in some pearl atolls, reaching up to 3 800 tonnes of marine litter in the single atoll of Takaroa (Tuamotu archipelago). Previous studies have also revealed the omnipresence of microplastics not only floating at the surface water, and in the water column of the lagoons, but

also accumulated in the tissues of oysters in pearl atolls (Gardon et al., 2021). Recently, an estimate of the annual waste generated by pearl archipelagos, based on prevalent practices, reported more than 369 tonnes of waste per year for Mangareva island in the Gambier Archipelago (Crusot et al., 2023). This raises the question of toxicity of leachates from polymers used in pearl oyster aquaculture, and how they may affect the biodiversity of coral reef ecosystems. A preliminary study has demonstrated the lethality and possible teratogenic effects of plastic leachates from pearl materials on larvae from the black-lipped pearl oyster *Pinctada margaritifera* (Gardon et al., 2020a). The percentage of abnormalities observed in these oyster larvae increases with the concentration of the tested plastic leachates. The same authors showed that leachates obtained from newly submerged pearl plastics for 24 hours had higher toxicity than leachates from aged plastics submerged for the same period. Chemical analyses of these first leachates revealed the presence of 19 PAHs in new rope and spat collectors as well as four additives (dimethyl phthalate, dibutyl phtalate, bis(2-ethylhexyl) phthalate and Irgafos 168®). As a consequence, there is a need for toxicological tests adapted to the monitoring of plastic impact in tropical environments, further providing the scientific and technical basis for mitigation measures. Typically, good bioindicator species should possess several characteristics, such as a well-known biological cycle, homogeneous responsiveness to a pollutant, and the existence of identifiable toxic effects associated with the degree of pollution (Li et al., 2019). In recent years, numerous ecotoxicological tests have been conducted, generally using echinoderms or bivalves (His et al., 1999; Bonaventura et al., 2021), well adapted to temperate waters. Tropical species are largely underrepresented in the literature, or focusing on issues related to the toxicity of metals from mining (Gissi et al., 2018; Markich, 2021), particularly on coral species (Binet et al., 2023; 2018; Hédouin et al., 2016). For now, and while these species are of greatest interest for tropical aquaculture, no ecotoxicological tests had been conducted on tropical sea cucumber black teatfish *Holothuria whitmaei*.

Here, our study was aimed to (i) assess the toxicity of ropes and collectors, made of PE and PP co-polymer, that are largely use in pearl aquaculture industry, (ii) to test various tropical species for the development of ecotoxicological tests adapted to the local context, and (iii) identify the best bioindicator species for chemical pollution induced by plastic leaching. Overall, this will support a better understanding of the impact of leachates from PE and PP plastic materials on the embryo-larval development of tropical species.

2. Materials et Methods

2.1. Plastics selection and leachate preparation

In this study, we specifically investigated the impact of chemical pollution induced by the immersion of new plastic materials used in pearl farms on marine organisms. We selected new ropes and collectors, which are among the most frequently used materials in pearl farming (Crusot et al., 2023). Macroplastics from new ropes and collectors made of PE and PP co-polymer were cut with scissors, sterilised with 70 % ethanol, into smaller plastic particles of approximately 5 mm. For leachate preparation, all glassware (flasks, filter funnels, Erlenmeyer flasks, borosilicate bottles) was autoclaved. The seawater used for all experiments was directly pumped in front of the Pacific Ifremer Center (CIP) in the lagoon of Vairao (Tahiti, French Polynesia). It went through several filtration steps: strainer, sand filter, 25 µm, 10 µm, and 1µm pocket filters, followed by a double 1 µm cartridge filter, UV sterilization, and finally autoclaving (sterile seawater - SW). Water parameters were measured using a multiparameter probe, and salinity was readjusted with MilliQ water if necessary (salinity: 36 psu; pH: 8.2). The leaching step was adapted from the protocol used by Gardon (Gardon et al., 2020a). Four litres of pearl plastic leachate (PPL) and four litres of control leachate (CL) were prepared. For PPL, 200 g of collector microplastics and 200 g of rope microplastics were added to 4 L of sterile seawater in a 10 L flask. For CL, 4 L of sterile seawater was placed in a 10 L flask. Leaching was conducted at room temperature (26 °C), under natural light, with a magnetic stirrer set at 600 rpm. After 24 hours of leaching the materials in water, both solutions were filtered with GF/C filters (1.2 mm of porosity, Ø 90 mm, Whatman™). PPL and CL were aliquoted into borosilicate bottles wrapped in aluminium foil, each containing 250 mL, and stored in the freezer at -20 °C.

2.2. Polymer and chemical analysis

The identification of polymers in pearl plastic materials, specifically ropes and collectors used throughout our study, was performed using Raman spectroscopy (AlphaR 300 Raman micro-spectrometer, Oxford Instrument/WITec, LDCM/ Brest, IFREMER) equipped with two lasers (532 nm and 785 nm).

Chemical characterization of leachates was conducted in duplicate by CEDRE (Brest, France) using gas chromatography (HP 7890N, multifunction injection Combipal MPS2, Gerstel) coupled with tandem mass spectrometry (GC/MSMS). Firstly, the extraction of organic compounds from the leachates was carried out with 10 mL of an internal standard solution

added to the leachate samples. A magnetic stir bar (Stir Bar Sorptive Extraction, SBSE) coated with a PDMS (Polydimethylsiloxane) phase was then immersed in the vial containing the leachate solution to proceed with the extraction of organic compounds. The extraction is performed by magnetically stirring the bar at 750 rpm for 16 hours in the dark. After this step, the bar is retrieved, dried, and then transferred to a desorption tube. Then, the interface temperature was set at 300 °C, with a preprogramed injection of 50 °C (0.5 min) to 280 °C (6 min) at 15 °C/min, coupled with a temperature-programmed injector (Cooling Injection Device, Gerstel: -10 °C (0.05 min) to 300 °C (10 min) at 12 °C/s). The temperature program of the oven was: from 70 °C (0.5 min) to 150 °C at 20 °C/min, then 320 °C (5 min) at 7 °C/min. Helium was used as the carrier gas. The capillary column used was an RXi 5-ms (Restek, Bellefonte, USA). The chromatograph was coupled with a tandem mass spectrometry detector (Agilent 7000 Triple Quad). Quantitative analysis of PAHs, PCBs, PBDEs, pesticides, and additives was performed by internal standard calibration in MRM mode with two transitions for each compound (Quantifier/Qualifier). The acquisition frequency of each fragment was 2 cycles/s. For the analysis of organic compounds, chromatograms were reprocessed using MassHunter Workstation V10.0 software (Agilent Technologies). The list of chemical compounds studied by gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry (GC/MSMS) carried out by CEDRE is available in the appendix Table A.1.

2.3. Larval development and tests design

Five species were selected to evaluate the potential toxicity of plastic leachates from pearl farms: *Pinctada margaritifera* (pearl oyster), *Saccostrea cucullata* (rock oyster), *Holothuria whitmaei* (sea cucumber black teatfish), *Litopenaeus stylirostris* (blue shrimp) and *Tripneustes gratilla* (collector urchin). The method of induction through thermal shocks on oysters and sea urchins was adapted according to the protocol by Ky et al. (2015). The animals were kept at 24 °C for 3 days and then rapidly immersed in a tank at 32 °C (Ky et al., 2015). For osmotic shock performed on *Saccostrea cucullata,* oysters were air-dried and rinsed with fresh water (Coeroli et al, 1984). After thermal or osmotic shocks, individuals emitting gametes were isolated in individual beakers and sexed. Once the quality of the gametes was verified, fertilization was performed. Holothurians were obtained from the commercial hatchery Tahiti Marine Products (TMP), where gametes were naturally spawned. Males and females were mixed in holding tanks, and the water was then filtered, after fecundation, to concentrate the emitted eggs and adjust their concentrations. For oysters, sea urchins and sea cucumbers, the eggs were exposed

to leachates immediately after fertilisation. *Litopenaeus stylirostris* larvae were directly supplied to us at the nauplii 1-2, i.e. approximately 8 hours after egg hatching, stage by the Centre Technique Aquacole of VAIA (Tahiti). The number of nauplii was adjusted through successive filtration, before immediate use. For all species, the fertilization percentage was estimated one hour after combining male and female gametes (Table A.2), through observations under a microscope and counting with a Malassez cell.

2.4. Microplate tests

The contact between the larvae and the different solutions was carried out in untreated cell culture plates (TPP, Techno Plastic Products, Switzerland). The volume and concentration of larvae per well were optimized during the various pre-tests and adapted for each species (Table 1). Once the larvae are added to the wells, the plates are kept in the dark in a Memmert climatic chamber to maintain a constant humidity level (64 % rh) and a temperature chosen for each species.

Table 1. Summary of larval rearing conditions in cell culture microplates

Species	Number of wells per plate	Volume of well (mL)	Number of larvae/mL	Incubation temperature (C°)	Targeted stage	Post-fertilisation fixation time (hours)
Pinctada margaritifera	12	4	60	29	Larva D	24
Saccostrea cucculata	12	4	50	27	Larva D	24
Holothuria whitmaei	12	4	25	28	Mid-Auricularia	93
Litopenaeus stylirostris	24	2	15	29	Zoe	40
Tripneustes gratilla	24	3	33	27	Pluteus	70

2.5. Positive control

Copper is often used as a reference toxicant because of its widespread use in various industries, its natural presence in the environment and its potential to cause adverse effects on aquatic organisms. Copper in the form of copper sulphate ($CuSO_4$) was diluted in sterile water and used as a positive control to monitor the quality of batches of larvae. The concentration ranges tested for each species will be expressed as equivalent Cu^{2+} concentrations in the remainder of this study (Table A.3). The tests were performed in five replicates.

2.6. Negative controls

In our tests, we used two negative controls. Firstly, the control leachate (CL) allowed us to verify that there has been no contamination of our solutions during the preparation and conditioning phases of the leachates. Secondly, we also prepared a sterile seawater control to test the quality of seawater used as a diluent for PPL. The tests were performed in five replicates.

2.7. Ecotoxicological tests

To test the potential toxicity of plastic leachates from pearl farms, we conducted a range of concentrations, expressed in grams of plastic per litre of seawater (g/L), ranging from 0.1 to 100 g/L (Table A.4). Dilutions were made with sterile seawater and the toxicity test was conducted in five replicates. During the testing phases, the development of larvae was regularly monitored using a Leica DMI3000B inverted microscope. Considering the different developmental stages, we predefined a target stage for each species that was easily identifiable, and before the larvae started to feed to avoid interferences (Fig. 1). When at least 80 % of the larvae under control conditions had reached this stage, the test was stopped for all conditions by adding 10 µL/mL of 8 % formaldehyde per well. After fixation, all the larvae in each well were observed and divided into two categories. Larvae that reached the predefined target stage were counted in the "normal larvae" category. Any showing growth delay or malformation was counted as "abnormal larvae."

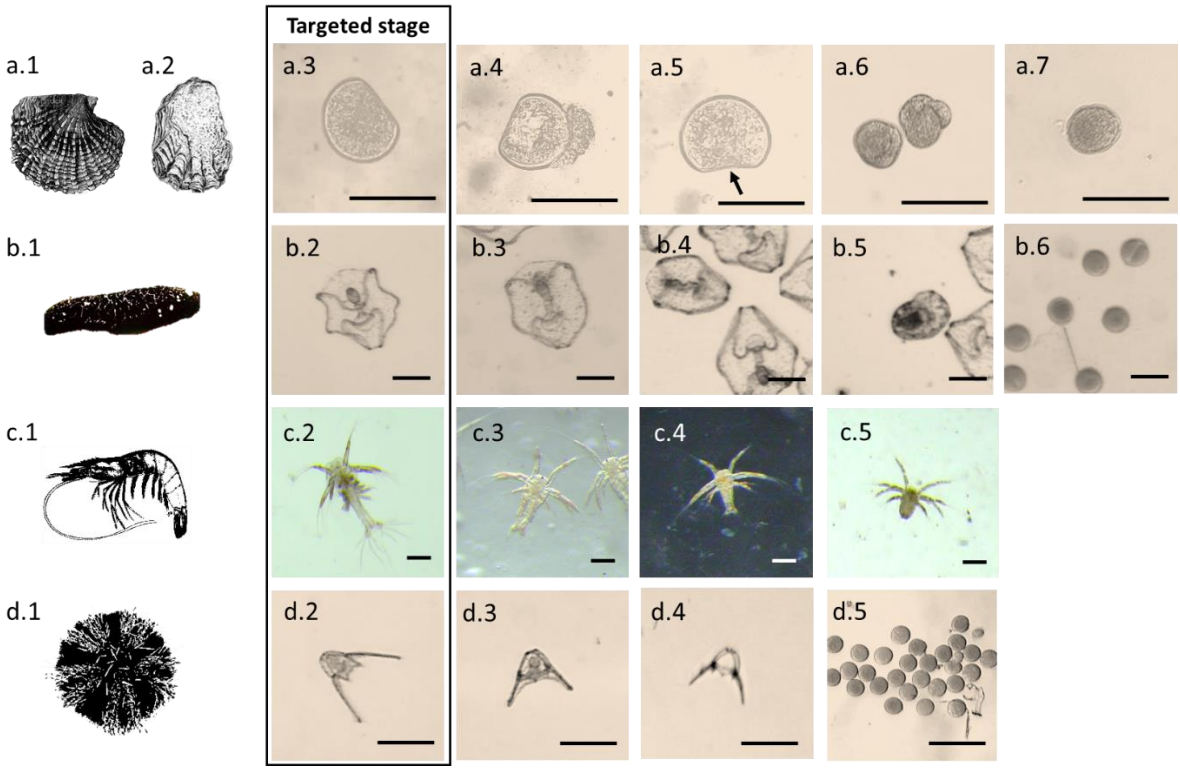


Fig. 1. Illustration depicting a *Pinctada margaritifera* (a.1), *Saccostrea cucullata* (a.2), *Holothuria whitmaei* (b.1), *Litopenaeus stylirostris* (c.1) and *Tripneustes gratilla* (d.1). Photographs of different encountered stages: normal D-larvae (a.3), D-larvae with mantle anomaly (a.4), shell anomaly (a.5), embryonic stage (a.6), oocytes (a.7), mid-auricularia (b.2), early-auricularia larvae (b.3, b.4), malformed larva (b.5), oocytes (b.6), zoe larvae (c.2), nauplii 6 larvae (c.3), nauplii 5/4 larvae (c.4), nauplii 3/2 larvae (c.5), pluteus larvae (d.2), early pluteus larvae (d.3), dead larva (d.4), oocytes (d.5).
Scale bar = 100µm

2.8. Determination of EC50

In order to compare the sensitivity of the five model species to plastic leachate in a consistent manner, we compared their effective concentration at which 50 % of the larvae exhibit a developmental anomaly compared to the control condition (EC50). For each species studied, the EC50 values for PPL and $CuSO_4$ were estimated using predictive models. Dose-response curves were generated using the "drc: Analysis of Dose-Response Curve" package. Among the regression models available in "drc", the best-fitted model for each dataset was selected. Model selection was based on various criteria such as "Log-Likelihood," "IC"

(Information Criterion), "Lack of fit", "Residual standard error," and "Variance of the residuals," which assess the quality of the fit for each model. The analyses were conducted using R 4.0.5.

3. Results

3.1. Nature of pearl farm plastics and leachates analysis

After Raman spectroscopic analyses, we identified the polymers constituting the ropes and collectors as polyethylene (PE) and polypropylene (PP). Chemical composition analyses of control leachate (CL) and pearl plastic leachate (PPL) revealed the presence of numerous compounds (Table 2). The concentrations mentioned below result from the average of the concentrations from the two replicates. Firstly, in the CL, the only organic compound in a concentration high enough to be detectable was nonylphenols with an average concentration of 13.53 ng/L (± 0.29).

For the PPL, four polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) were quantified: phenanthrene at 21.37 ng/L (± 0.54), pyrene at 6.93 ng/L (± 0.23), fluoranthene at 4.65 ng/L (± 0.06) and anthracene at 2.66 ng/L. The sum of the concentrations of PAHs is 35.6 ng/L (± 0.82). Numerous pesticides were also identified. In descending order of concentrations, they were: acetochlor 425 ng/L (± 25.67), metolachlor 78.37 ng/L (± 4.4), chlorpyrifos 27.03 ng/L (± 0.31), endosulfan alpha 3.92 ng/L (± 0.13), endosulfan beta 1.77 ng/L (± 0.07), beta-BHC (β-Hexachlorocyclohexane) 1.35 ng/L (± 0.15), and gamma-BHC (gamma-hexachlorocyclohexane) 0.84 ng/L (± 0.02). Summing the concentrations of the 7 pesticides listed yields 538.7 ng/L (± 30.47). In the phthalate category, only dibutyl phthalate (DBP) was found, with a concentration of 169.46 ng/L (± 54.05). Finally, the last category of identified organic pollutants was made up of alkylphenols. Three were identified: nonylphenols 88.36 ng/L (± 1.57), 4-tOP (4-tert-Octylphenol) 6.21 ng/L (± 0.69), and 4-OP (4-Octylphenol) 1.18 ng/L (± 0.01). The analyzed PPL thus contains 95.75 ng/L (± 2.25) of alkylphenols of three different types. No detectable level of PCBs or PBDEs was detected in any of the replicates.

Table 2. Chemical compositions of new pearl plastic leachates (rope and collector), obtained through gas chromatography coupled with tandem mass spectrometry (GC/MSMS) conducted by CEDRE in Brest (Center for Documentation, Research, and Experimentation on Accidental

Water Pollution). The limits of detection (LD) and quantification (LQ) are given for each chemical compound.

			Control		**Pearl plastic leachate 100g/L**	
LD (ng/L)	LQ (ng/L)	chemical compounds	1	2	1	2
1.5	5	Phenanthrene	<LD	<LQ	21.9	20.83
0.15	0.5	anthracene	<LD	<LD	2.66	2.67
0.3	1	fluoranthene	<LD	<LD	4.7	4.59
1.5	5	pyrene	<LD	<LD	7.16	6.7
		∑ HAPs	**0**	**0**	**36.42**	**34.79**
0.3	1	Beta-BHC	<LD	<LD	1.2	1.5
0.15	0.5	gama bhc	<LD	<LD	0.86	0.82
0.3	1	acetochlore	<LD	<LD	451.08	399.75
0.3	1	metolachlore	<LD	<LD	82.77	73.96
0.15	0.5	chlorpyrifos	<LQ	<LQ	27.34	26.72
0.15	0.5	endosulfan alpha	<LD	<LD	4.07	3.79
0.15	0.5	endosulfan beta	<LD	<LD	1.84	1.7
		∑ Pesticides	**0**	**0**	**569.16**	**508.24**
30	100	DBP	<LD	<LD	223.5	115.41
		∑ Phtalates	**0**	**0**	**223.5**	**115.41**
0.3	1	4 tOP	<LQ	<LQ	6.9	5.52
0.3	1	4-OP	<LD	<LD	1.18	1.19
3	10	NPs	13.82	13.25	89.91	86.79
		∑ Alkylphenols	**13.82**	**13.25**	**97.99**	**93.5**

3.2. Cu^{2+} as referent toxic

Five dose-response curves were obtained after exposure of *Pinctada margaritifera*, *Saccostrea cucullata*, *Holothuria whitmaei*, *Litopenaeus stylirostris or Tripneustes gratilla* larva to $CuSO_4$ pollutant (Fig. 2). Whatever the species considered, the rate of normally developed larvae in negative controls was above 80 % which allowed to calculate EC50. The five species were ranked from the most to the less sensitive to cupper cation, as follows: *Saccostrea cucullata, Holothuria whitmaei*, *Tripneustes gratilla, Pinctada margaritifera, Litopenaeus stylirostris,* with EC50 values ranging from 16.4 to 119.1 µg/L. The linear regression model best suited to each data set, the EC50 obtained with this model and a range of EC50 obtained with estimates from the other models are specified in Table 3.

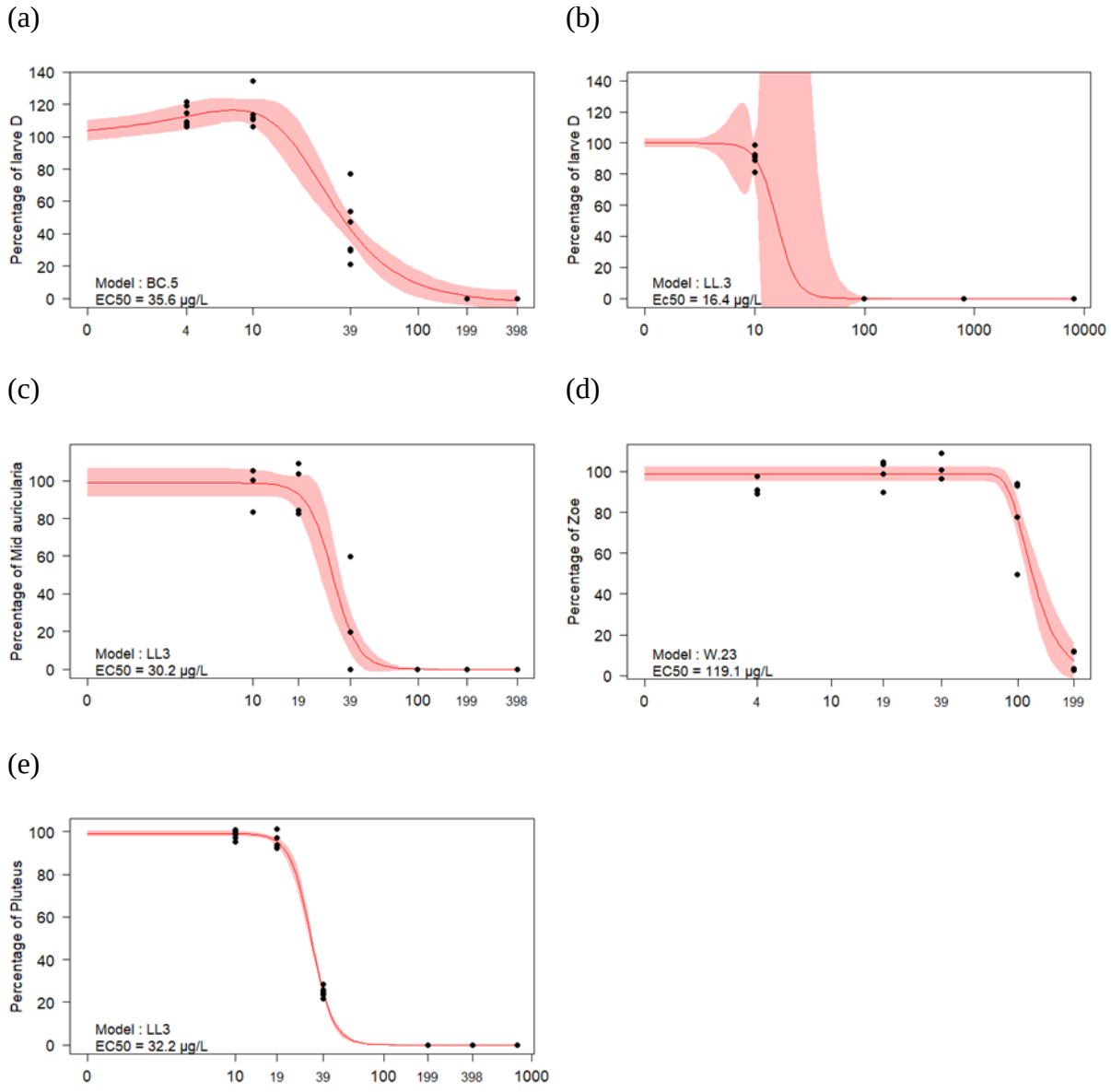


Fig. 2. Dose-response curves after exposure to Cu^{2+}, concentration in µg/L, and estimation of the EC50 and 95% confidence interval for larvae *Pinctada margaritifera* (a), *Saccostrea cucullata* (b), *Holothuria whitmaei* (c), *Litopenaeus stylirostris* (d), *Tripneuste gratilla* (e).

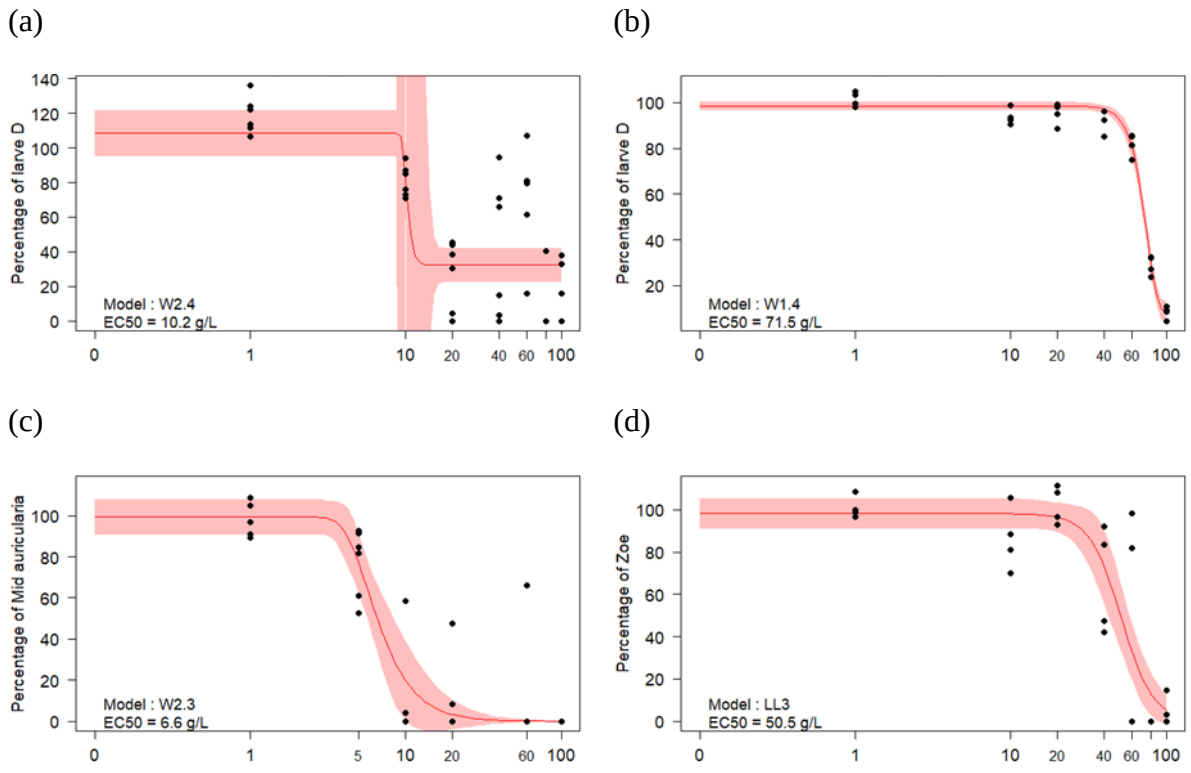
Table 3. EC50 Cu^{2+} for each species and the evaluation of EC50 with other models.

Specie	Model	EC50 of Cu2+ (µg/L)	Range of assessment of EC50 by other models (µg/L)
Pinctada margaritifera	BC.5	35.6	[35.4 ; 38.6]
Saccostrea cucullata	LL.3	16.4	[10.8 ; 35.3]
Holothuria whitmaei	LL.3	30.2	[29.1 ; 33.6]

Litopenaeus stylirostris	W2.3	119.1	[112.6 ; 135.1]
Tripneustes gratilla	LL.3	32.2	[33.0 ; 37.7]

3.3. PPL Tests

The results of exposure tests on larvae of the five tropical model species to pearl plastic leachate are presented in Fig. 3. The tested PPL resulted in malformations and growth delays for all considered species. However, the species appear to exhibit varying sensitivities to the PPL. Calculations of EC50 values allowed for ranking these species based on their sensitivity. *Holothuria whitmaei* emerged as the most sensitive species, followed by *Pinctada margaritifera*, *Tripneustes gratilla*, *Litopenaeus stylirostris*, and finally, the least sensitive to PPL was *Saccostrea cucullata*. The EC50 values for PPL ranged from 6.6 to 71.5 g of plastic per liter of seawater. The summary of all obtained EC50 values for PPL is presented in Table 4 for each species, the linear regression model best suited to each data set, the EC50 obtained with this model and a range of EC50 obtained with estimates from the other models are specified in Table 4.



(e)

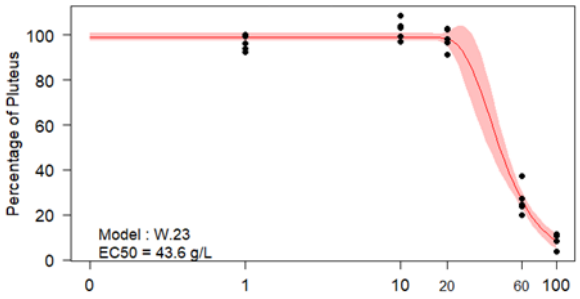


Fig. 3. Dose-response curves after exposure to pearl plastic leachate, PPL concentration in g/L, and estimation of the EC50 and 95% confidence interval for larvae. *Pinctada margaritifera* (a), *Saccostrea cucullata* (b), *Holothuria whitmaei* (c), *Litopenaeus stylirostris* (d), *Tripneuste gratilla* (e).

Table 4. Summary of the EC50 values obtained for the pearl plastic leachate for all studied species.

Specie	Model	EC50 (g/L)	Range of assessment of EC50 by other models (g/L)
Pinctada margaritifera	W2.4	10.2	[10.2 ; 26.3]
Saccostrea cucullata	W1.4	71.5	[70.7 ; 71.8]
Holothuria whitmaei	W2.3	6.6	[6.0 ; 6.8]
Litopenaeus stylirostris	LL.3	50.5	[48.9 ; 61.9]
Tripneustes gratilla	W2.3	43.6	[43.3 ; 50.8]

4. Discussion

In recent years, the number of studies on plastic pollution has exponentially increased. In order to compare the results highlighted by various research teams worldwide addressing this issue, it seems essential to establish an unique and harmonized protocol, such as ISO standards for other oyster species (ISO 17244, 2015). The identification of reference model species for each biotope is crucial for the overall comparison of the toxicity induced by plastic pollution as well as the use of referent toxic products as positive controls in order to be able to compare geographical distant ecotoxicology studies using the same model species. In this study, we have endeavoured to test several tropical species with the aim of defining criteria resulting from

practical aspects (ease of obtaining breeders, ease of triggering spawning, larval capacity to develop in small volumes without water renewal, ease of identifying development stages with easily recognizable morphological characteristics) as well as toxicological relevance (sensitivity of species to tested toxins). The ultimate aim is to identify the best bioindicator species for chemical pollution caused by plastic leaching. The routine application of these simple tests could facilitate the establishment of a monitoring network to alert about the exceeding of pollution thresholds in high-risk areas such as pearl farming zones.

4.1. Contamination of the Control Leachate

To validate the leaching protocol and ensure there was no contamination during various preparation phases, control leachates were sent to CEDRE (France). Only the presence of nonylphenols was identified in the control leachates (13.2-13.9 ng/L). This contamination can have several origins. One possibility is that the measured nonylphenols were present on the glassware used. Another possibility, the presence of nonylphenols is attributed to the contamination of the Vairao lagoon, from which the seawater was pumped. nonylphenols are widely used as surfactants, antioxidants, detergents, emulsifiers, among other applications and can be found in paints, pesticides, cleaning products, and are also used as plasticizers (Environmental Protection Agency, 2010a, Noorimotlagh et al., 2020). The concentrations measured in our control leachates remain far below the concentrations considered risky for the environment (1.7 µg/L) (Brooke and Thursby, 2005) and do not seem capable of affecting the larval development of the tested species (Hong et al., 2022). Other chemical compounds in the control leachate were below detection or quantification limits.

4.2. Variability of leachates products

Compared to a study performed in 2020 first highlighting the toxicity of leachates from pearl plastic materials (Gardon et al., 2020a), and using the same protocol, in the same laboratory, leachate composition was found different, with the concentration of phthalates decreased from 6 680.92 ng/L in 2020 to 169.46 ng/L in our work, while pesticides were increased from 21.69 ng/L in 2020 to 538.71 ng/L in our experiment. These facts highlight the difficulty of reproducing plastic leaching products and strongly encourage the chemical characterisation of the leachates generated. The differences observed between the composition of these leachates may be due to a number of external factors. The main reason being the plastics themselves. Although the plastics used in these two studies were standard PE and PP ropes and

collectors used in pearl farming, we cannot rule out a difference in the manufacturing processes during which additives have been intentionally added during the manufacturing of plastics to provide them with desirable physical or chemical properties, such as plasticizers, stabilizers, or flame retardants (Hermabessiere et al., 2017; Lithner et al., 2011), or they may have been absorbed during their transportation or storage (J. Wang et al., 2016). These factors could explain the differences in composition between these two plastic leachates produced with different batches of plastics several years apart.

4.3. Chemical Analysis of Pearl Plastic Leachates: Presence of POPs and Additives

Analytical techniques using gas chromatography coupled with tandem mass spectrometry (GC/MSMS) conducted on our PPL have revealed numerous persistent organic pollutants (POPs) and additives related to plastics. Among the identified POPs after 24 hours of leaching 100 g of new pearl plastics in one litre of seawater, some have already been recognized as posing risks to marine ecosystems. The most represented class of POPs was pesticides and acetochlor was the main one. Among the noteworthy studies, Mahmood et al., (2021, 2022) demonstrated the numerous effects of acetochlor on the carp *Aristichthys nobilis*. Metolachlor, the second most prevalent pesticide in our leachates, has been linked to a significant increase in DNA and behavioural damage observed in oysters and crustaceans (Mai et al., 2012; Stara et al., 2019). Some research has highlighted the combined effect of pesticides and microplastics on copepods (Bellas & Gil, 2020) or the synergistic effect of chlorpyrifos, acetochlor and dicofol on marine diatoms (Z. Zhang et al., 2023).

The second largest group in our PPL was phthalates. Phthalates, like other plastic additives, are not bound to the polymer matrix of plastics and are therefore easily and rapidly leached into water during plastic immersion (Clara et al., 2010; Paluselli et al., 2019). After studying the effects of 18 different phthalates on microorganisms, algae, invertebrates, and fish, a toxicity ranking was established (Staple et al., 1997). Low molecular weight phthalates such as dibutyl phthalate (DBP) and butyl benzyl phtalate (BBP) have higher acute and chronic toxicity than other tested molecules (Staple et al., 1997). A wide range of effects of DBP on marine organisms has been described, ranging from oxidative stress to enzymatic and metabolic alterations in marine animals at concentrations on the order of µg/L (Zhou et al., 2015). Teratogenic effects and increased mortality in *Danio rerio* (Ortiz-Zarragoitia et al., 2006) or feminizing the sexual characteristics of male fish and its impact on the gonadal development of juvenile fish (Bhatia et al., 2014) have occurred following exposure to DBP.

The predominantly found alkylphenol in our plastic leachates is nonylphenol. This chemical compound is identified as an endocrine disruptor, mimicking natural hormones such as 17β-œstradiol (P. C. Lee & Lee, 1996), which can impact the development, fertility and the production of female hormones in some fish (Kinnberg et al., 2000; H. J. Lee et al., 2003; Tabata et al., 2001).

Phenanthrene is the most toxic aromatic hydrocarbon tested by Black et al., its high toxicity is attributed to the large number of aromatic cycles it contains (Black et al., 1983). Since then, the toxicity of PAHs on the development of freshwater and marine fish larvae and juveniles has been demonstrated (Mu et al., 2014; Wessel et al., 2010).

When comparing the cited studies to the concentrations of additives measured in our leachates, certain distinctions become evident. Firstly, it is noteworthy that the orders of concentrations examined in previous studies were expressed in micrograms or milligrams per litre, whereas in our plastic pearl leachate (PPL), all concentrations were reported in nanograms per litre. If we relate the concentration of the compounds identified in our leachates to the estimated effective concentration for each species, the toxic order of magnitude of each compound is even lower. Thus, the effective concentration causing abnormal development in 50 % of the larvae of *H. whitmaei*, *P. margaritifera*, *T. gratilla*, *L. stylirostris* and *S. cucculata* would be due to a complex mixture of respectively 55 ng/L, 86 ng/L, 366 ng/L, 424 ng/L and 600 ng/L of the sum of PAHs, pesticides, phthalates and alkylphenols (Table A.5).

However, with regard toxenoestrogens, a body of evidence from various studies has demonstrated that the effects of two or more compounds capable of disrupting the endocrine system may be additive or synergistic, even at low concentrations (Kwak et al., 2001; Rajapakse et al., 2002; Sol Dourdin et al., 2023). A mixture of eight xenoestrogens, such as Benzophenones or Bisphenol A which can be found in the composition of plastic, at concentrations below their no observed effect concentration (NOEC), had significant estrogenic effects on cells *in vitro* (Silva et al., 2002). These results demonstrate that the combination of these chemicals can induce notable biological effects, challenging risk assessments based solely on individual agents. This observation is particularly significant given the intricate mixture present in our PPL, necessitating consideration of potential synergistic and/or cumulative effects.

4.4. Embryo-larval tests with copper

The ISO standard suggests Cu^{2+} as a reference toxicant to ensure the standardization of ecotoxicological results. In our experiments, all examined species responded to the presence of this molecule, albeit in varying degrees. Previous studies indicate that the EC50 for copper ion in different bivalve species falls between 6.0 and 12.8 µg/L (Markich, 2021; Nadella et al., 2009; Rosen et al., 2008). We found an EC50 for *Saccostrea cucullata* closely aligning with reference values, while the calculated EC50 for *Pinctada margaritifera* was found 3-fold higher than the EC50 range established by the same authors. Limited ecotoxicological studies, especially on tropical species, exist for sea cucumbers. Rakaj (Rakaj et al., 2021) and Morroni (Morroni et al., 2019) assessed the sensitivity of two species, *Holothuria tubulosa* and *Holothuria polii*, estimating their EC50 between 100 and 110 µg/L for the first, and 260 µg/L for the second. *Holothuria whitmaei* exhibited an EC50 of 30.2 µg/L for Cu^{2+}, showing a greater sensitivity compared to other species within the same genus. The sensitivity of the shrimp to copper varies based on multiple factors including the life stage and exposure time. Tests on a freshwater species, *Macrobrachium rosenbergii*, estimated the LC50 to copper at 0.46 mg/L after 48h of exposure (Osunde et al., 2004). For *Litopenaeus stylirostris*, the copper EC50 was 119.1 µg/L, and a higher concentration would be expected if "lethal concentration" had been chosen over "effective concentration". In *Paracentrotus lividus*, extensively studied in toxicology, exhibit similar EC50 estimates for copper ion, ranging from 60 to 70 µg/L (Pétinay et al., 2009) and 45.8 to 72.8 µg/L, depending on exposure time (Morroni et al., 2018). Other sea urchin species, such as *Echinometra mathaei* (29.85 µg/L ± 1.86) and *Strongylocentrotus purpuratus* (14.3-20.6 µg/L), display varying sensitivities. In our study, the tropical species *Tripneustes gratilla* had an EC50 of 33.1 µg/L, consistent with estimates from published studies.

Comparing the EC50 for Cu^{2+} among model species in this study with those from prior research reveals valuable insights. Methodology variations significantly influence sensitivity measurements, and even species within the same phylogenetic "order" can exhibit different sensitivities. This is evident in *Pinctada margaritifera* and *Saccostrea cucullata*, both belonging to the *Ostreida* order, with respective EC50 values of 35.6 and 16.4 µg/L for Cu^{2+}. The sources of variation in the observed differences in sensitivity to copper between species can nevertheless be attributed to a sensitivity specific to the species or to external parameters (spawning quality, heterogeneity of test conditions, sensitivity index chosen EC or LC). The EC50 values for copper obtained for the five model species in our study could be used as

reference points for future toxicological tests on these tropical species, which may have different sensitivities compared with their temperate counterparts.

4.5. Embryo-larval tests with PPL

The overall results indicate a significant effect of leachate from pearl plastic on all studied species. The dose-response curves obtained show a correlation between an increase in plastic concentration and a decrease in normal larvae. The presence of plastic in the environment therefore favours an increase in growth anomalies, such as malformations and developmental delays. The EC50 values obtained from projections of different models adapted to each species show varying effective concentrations of leachate from pearl plastics. The most sensitive species to PPL is H. whitmaei, followed by P. margaritifera, with an T. gratilla, L. stylirostris and S. cucullata as the least sensitive species. The effective concentration values ranged from 6.6 g/L for the most sensitive species to 71.5 g/L for the most resistant species to plastic leachates.

The effective concentrations of plastics obtained for all species, on the order of grams per litre, appear to be distant from concentrations previously measured in the natural environment. However, it is important to remember that the toxicity results of this study are based on both limited exposure duration and short time leachate production. For the two oyster species, we chose to stop the test after 24 hours of larval exposure to the leachates. A previous toxicity study using the same pearl plastics demonstrated significant effects of leachates at 0.1 g/L for oyster larvae exposed for 48 hours, whereas no visible effect was reported for the same concentration after 24 hours of exposure and even using a dose 100 times more concentrated of 10 g/L (Gardon et al., 2020a). Furthermore, the same authors show that increasing leachates production time from 24h to 120h induced significant larval mortality rates of 85.9 % ± 3.0 % at the lowest tested concentration of 0.1 g/L in a 48h exposure treatment, to be compared to 10.0 % ± 13.8 % for control animals.

Prolonged exposure to plastic leachates coupled with a prolonged leaching time of new pearl plastics, as encountered in natural environments, may thus lead to increased larval sensitivity. In French Polynesia, several decades of extensive use of plastic materials coupled with poor waste management have gradually led to significant plastic pollution of the Polynesian pearl atolls. Campaigns to estimate the amount of historical pearl farm litter accumulated since the 1980s have been conducted in Polynesia by the Direction of Marine Resources. One such

campaign was carried out in Takapoto in 2018. For over forty years, this atoll, due to its unique environmental and ecological characteristics, a nearly enclosed lagoon and a large wild oyster population, has been the main supplier of oyster spat for the Tuamotu (Intes, 1984). Using a multibeam echo sounder, part of this lagoon was analysed, revealing over 432 tonnes of plastic waste (DRM, 2018). Far from being inert, aged plastic will continue to be toxic throughout its marine life by releasing chemical compounds and decomposing into microplastics that can be assimilated by organisms (Andréfouët et al., 2014; Gardon et al., 2020a, 2021, 2024).

This historical amount of abandoned plastics is compounded by the annual renewal of pearl farming plastics. A study to estimate the annual amount of waste produced by this sector was conducted by (Crusot et al., 2023). For the Takapoto atoll, they estimated that the 141 hectares of marine concessions generate nearly 38.9 ± 3.4 tonnes of plastic waste per year. Assuming that the quantity of plastic waste in the water has not increased since the 2018 estimate, due to widespread environmental awareness and the introduction of legislation in 2017 condemning this type of practice, and that the annual waste production corresponds to newly introduced plastics in the lagoon, we can approximate the concentration of plastic in the Takapoto lagoon. This lagoon, covering 8 100 hectares, with an average depth of 25 metres, semi-closed with a water renewal time of 268 days (Pagès & Andréfouët, 2001), contains approximately 2 025 million cubic meters of water. The amount of historical waste is 432.2 tonnes, and the newly introduced plastic per year is 38.9 tonnes. This results in a concentration of 0.23 mg/L. This quantity is likely underestimated as our calculations do not account for undeclared pearl farming installations, which can be significant (Crusot et al., 2023). Additionally, this concentration of 0.23 mg/L assumes a homogeneous distribution of plastic throughout the water column and across the lagoon's surface, which is inaccurate. Thus, local plastic concentrations can be much higher than the global estimates generally made at the lagoon scale (Gardon et al., 2021). Conversely, it can be more accurately considered that currently, in the Takapoto lagoon, nearly 470 tonnes of old and new plastics continue to release potentially toxic chemicals to numerous lagoon species, and at high concentrations locally, to the extent that many species live in close contact with plastics such as ropes and collectors. This concerns in particular i) the first stages of life of molluscs such as pearl oysters during the fixation phase of the larvae on these types of inert supports or ii) benthic animals such as holothurians found near pearl farming waste such as tangled rope mats or collection lines stranded on the seabed (Andréfouët et al., 2014). To prevent and act in case of suspected contamination threshold exceedance in the lagoons, and in addition to ecotoxicological tests on larvae, it would be pertinent to chemically

characterise the water using passive samplers (Bartelt-Hunt et al., 2011; Net et al., 2015; Van Metre et al., 2017).

With regard to the technical and logistical aspects of reproduction mentioned in this study, we can state that species such as *P. margaritifera* and *T. gratilla* represent a challenge with regard to the conditioning of broodstock, with the aim of inducing spawning, as well as the success of fertilisation and the hatching rate of eggs. Ongoing research programs at CIP focus on optimizing breeding and conditioning for inducing spawning in these species. *L. stylirostris* presents a different set of challenges. In shrimp farming, spawning induction requires a complex and technical procedure. Although fertilization rates were good in various tests with this species, the hatching rate was low. To avoid compromising water quality in the reduced volumes of microplates, we chose to collect viable larvae after hatching instead of fertilized eggs, some of which might be non-viable and lead to an increase organic matter and potential contamination. However, this choice limited the contact time between the larvae and the PPL, beginning only 8 hours post-hatching.

Based on our experience, we can conclude that the tested species that were the easiest to raise and reproduce were *S. cucullata* and *H. whitmaei*. Due to its developed adaptive capabilities, *S. cucullata* has spread worldwide and thrives in both temperate and tropical environments (Do Amaral et al., 2020; Pagenkopp Lohan et al., 2015; Ramadhaniaty et al., 2018; Ulman et al., 2017). Unlike representatives of this species in temperate environments, specimens of *S. cucullata* in tropical environments are capable of reproducing throughout the year (Legat et al., 2021). This characteristic allows for the production of *S. cucullata* larvae at any season, which is a major advantage for implementing routine environmental monitoring. The minimum size for first maturation of this species has been determined to be 32.8 mm and 28.3 mm for females and males, respectively (Mafambissa et al., 2023). To select mature breeders, especially if collecting wild individuals is considered, it is advisable to choose individuals whose shell length exceeds these sizes. In our spawning attempts, a brief emersion phase of the breeders followed by a rinse with fresh water before immersion in seawater has always been sufficient to trigger spawning in several breeders with fertilization and hatching rates exceeding 90 %. However, other reproduction inductions exist and have proven effective for the *Saccostrea* genus, such as the combination of decreased salinity with the addition of sperm to the breeders' water (Nowland et al., 2021).

In these tests, we also measured the potential of sea cucumbers *H. whitmaei* and the numerous logistical advantages that this species represents. This species, widely distributed in the Indo-Pacific, is highly present in French Polynesia. Research currently conducted by the company TMP contributes to increasing general knowledge about this species to enhance its breeding for pharmacological purposes. At present, limited information is available for this species. However, data on the breeding methods of sandfish sea cucumbers *H. scabra*, a tropical sea cucumber species with high market value belonging to the same genus, are available. The ideal weight for a mature breeder is 500 g (Agudo, 2006). According to the same author, several spawning induction protocols have already been tested. Among the most effective and non-lethal combinations, it is recommended to air-dry the animals, followed by a cold and then a hot thermal shock. Alternatively, natural spawns can be obtained by collecting the animals just before the full and new moons, as was our case, with the peak fertility of this species identified during the austral summer. Eggs obtained from natural spawns are generally more numerous, but the quantity of oocytes emitted by induction, even outside the natural spawning periods, is on the order of 1 to 2 million per female (Agudo, 2006), which is more than sufficient for conducting tests in microplates

In the perspective of larval production for the implementation of ecotoxicological tests in tropical regions, we recommend using *S. cucullata* and/or *H. whitmaei*. To limit infrastructure, maintenance, and food production, we advise collecting a few breeders from the wild and employing non-lethal spawning induction methods so that these adult individuals can be returned to the natural environment once spawning is completed.

If we now compare the response of these two selected species in terms of their sensitivity to plastic leachate, it is observed that the 50 % development anomalies are reached at concentrations of 6.6 and 71.5 g/L of plastic for *H. whitmaei* and *S. cucullata* respectively. *H. whitmaei* is therefore almost 11 times more sensitive than *S. cucullata*. Considering these biological characteristics and the sensitivity demonstrated by *H. whitmaei* during exposure tests to plastic leachate, this species appears to be a good bioindicator of plastic pollution in tropical environments. The control of larval development in *H. whitmaei* opens the possibility of establishing a monitoring network for assessing pollution levels in pearl farming sites or monitoring the toxicity of aquaculture effluents in Polynesia. More broadly, the significance of this approach lies in the applicability of the results to the specific context of tropical island environments, particularly in lagoons and aquaculture areas.

For the future, it would be interesting to continue the development of microplate tests by confronting the larvae with multistress and thus better assessing their behaviour in the face of current global changes. Indeed, synergistic effects have been demonstrated between the effects of climate change and marine pollution (reviewied by Cabral et al., 2019). Synergistic effects are defined as stressors interplay resulting in a combined effect greater than the sum of their individual effects (Folt et al., 1999). The effects of increasing temperature or ocean acidification (Cao et al., 2018), two effects of global climate change, combined with metals or POPs (Su et al., 2017) or with plastic pollution (Bertucci & Bellas, 2021) have shown more significant deleterious effects on marine organisms than the effect of each stress evaluated separately.

5. Conclusion

In to this study, we identified the composition of leachate from ropes and spat collector oysters made of polyethylene and polypropylene plastic. The results suggest that pearl plastics leachates are complex mixtures of POPs and additives such as hydrocarbons, pesticides, phthalates and alkylphenols. These chemical compounds prove toxic even at low concentrations (ng/L). Indeed, thanks to acute exposure toxicity tests developed in microplates, the harmful effects of plastic pollution on the early stages of development of tropical organisms have been demonstrated. Among the studied species, *Holothuria whitmaei* had never been used for ecotoxicological testing. In addition to its effective sensitivity to plastic pollution, this species has logistical and biological advantages that make it an interesting bio-indicator species to develop for monitoring chemical contamination of tropical lagoons. The range of sensitivity to the reference toxicant Cu^{2+} has been established for *H. whitmaei* and could serve as a reference for future ecotoxicological tests. As the use of plastics in aquaculture and pearl farming is chronic and massive, further studies are now needed to provide information on the impact on exposed organisms over generations and to characterise possible synergies between mixtures of POPs and additives and environmental factors set to change with current climate change.

Supplementary Figures and Tables

Table A.1. List of chemical compounds investigated by gas chromatography coupled with tandem mass spectrometry (GC/MSMS) carried out by CEDRE in Brest (Center for

Documentation, Research, and Experimentation on Accidental Water Pollution). The limits of detection (LOD) and quantification (LOQ) are given for each chemical compound

LD (ng/L)	LQ (ng/L)	Chemical compounds
1.50	5.00	naphtalene
0.15	0.50	benzothiophene
0.15	0.50	biphenyl
0.15	0.50	acenaphtylene
0.15	0.50	acenaphtene
0.30	1.00	fluorene
0.30	1.00	Dibenzothiophene
1.50	5.00	Phenanthrene
0.15	0.50	anthracene
0.30	1.00	fluoranthene
1.50	5.00	pyrene
0.15	0.50	benzoaanthracene
0.15	0.50	chrysene
0.15	0.50	benzobfluoranthene
0.15	0.50	benzokfluoranthene
0.15	0.50	benzoepyrene
0.15	0.50	benzoapyrene
0.15	0.50	perylene
0.30	1.00	indeno123cdpyrene
0.30	1.00	dibenzoahanthracene
0.30	1.00	benzo(ghi)perylene
		∑ PAHs
0.15	0.50	PCB 7
0.15	0.50	PCB 28
0.15	0.50	PCB 52
0.15	0.50	PCB 35
0.15	0.50	PCB 101
0.15	0.50	PCB 77
0.15	0.50	PCB 135
0.15	0.50	PCB 118
0.15	0.50	PCB 153
0.15	0.50	PCB 105
0.15	0.50	PCB 138
0.15	0.50	PCB 156
0.15	0.50	PCB 180
0.15	0.50	PCB 169
		∑ PCBs
0.15	0.50	Alpha-BHC
0.15	0.50	hexachlorobenzene
1.50	5.00	Atrazine
0.30	1.00	Beta-BHC
0.15	0.50	gama bhc
0.30	1.00	Diazinon
0.30	1.00	Delta-BHC
0.30	1.00	acetochlore
0.30	1.00	methylparathion
0.15	0.50	alachlore
0.15	0.50	aldrine
0.30	1.00	metolachlore

0.15	0.50	chlorpyrifos
0.15	0.50	ethylparathion
0.15	0.50	isodrine
0.30	1.00	metazachlore
0.30	1.00	pendimethaline
0.30	1.00	chlorfenvinphos
0.15	0.50	2-4-dde
0.15	0.50	endosulfan alpha
0.15	0.50	4-4-dde
0.15	0.50	dieldrine
0.15	0.50	2-4-ddd
0.15	0.50	endrine
0.15	0.50	endosulfan beta
0.15	0.50	4-4ddd
0.15	0.50	2.4-ddt
0.15	0.50	endosulfan sulfate
0.15	0.50	4-4ddt
		∑ Pesticides
0.30	1.00	BDE 28
0.30	1.00	BDE 47
0.30	1.00	BDE 99
0.30	1.00	BDE 100
0.30	1.00	BDE 153
0.30	1.00	BDE 154
0.30	1.00	BDE 183
		∑ PBDEs
15.00	50.00	DMP
nd	nd	DEP
30.00	100.00	DBP
15.00	50.00	BBP
30.00	100.00	DEHA
nd	nd	DEHP
		∑ Phtalates
0.30	1.00	4 tOP
1.50	1.00	4-NP
0.30	1.00	4-OP
3.00	10.00	NPs
		∑ Alkylphenols

Table A. 2. Summary of spawning data for the different species used in the tests.

Species	Origin of broodstock	Egg-laying induction	Number of male emitters	Number of female emitters	Fertilization rate
Pinctada margaritifera	Ifremer	Heat shock	2	2	>90%
Saccostrea cucculata	Ifremer	Osmotic shock	1	2	>90%
Holothuria whitmaei	Tahiti Marine Products	Natural	NA	NA	>90%
Litopenaeus stylirostris	Vaia	Pedonculation	NA	NA	>90%
Tripneustes gratilla	Ifremer	Heat shock	1	1	97%

Table A.3. Concentrations of Cu^{2+} tested for different species.

Cu2+ concentration (µg/L)	**0**	**4.0**	**10.0**	**19.9**	**39.8**	**99.5**	**199.0**	**398.0**	**796.0**	**7960.0**
Pinctada margaritifera	x	x	x	x	x		x	x		
Saccostrea cucullata	x		x			x			x	x
Holothuria whitmaei	x		x	x	x	x	x	x		
Litopenaeus stylirostris	x	x		x	x	x	x			
Tripneustes gratilla	x		x	x	x		x	x	x	

Table A.4. Relative percentages of normally developed larvae as a function of plastic leachate concentrations tested for each different species.

Concentration of plastic leachate (g/L)	**0**	**0.1**	**1**	**5**	**10**	**20**	**40**	**60**	**80**	**100**
Pinctada margaritifera	100 ± 6.8	105.7 ± 5.3	119.0 ± 10.8	x	81.1 ± 9.1	27.2 ± 20.1	41.8 ± 40.5	71.0 ± 30.6	6.8 ± 16.6	14.5 ± 17.5
Saccostrea cucculata	100 ± 2.2	98.3 ± 5.9	101.6 ± 3.2	x	93.8 ± 3.6	95.2 ± 4.9	94.9 ± 2.3	82.4 ± 4.6	28.9 ± 4.1	8.4 ± 2.7
Holothuria whitmaei	100 ± 12.1	99.1 ± 6.8	98.2 ± 8.5	77.3 ± 16.6	15.6 ± 28.6	11.2 ± 20.7	x	16.5 ± 33.02	x	0 ± 0
Litopenaeus stylirostris	100 ± 5.3	98.5 ± 4.8	101.0 ± 5.2	x	86.3 ± 15.0	102.3 ± 8.9	66.2 ± 4.9	45.0 ± 52.3	0 ± 0	5.2 ± 6.5
Tripneustes gratilla	100 ± 1.8	99.5 ± 3.9	96.5 ± 3.2	x	102.4 ± 4.6	98.4 ± 4.78	x	26.7 ± 6.5	x	8.6 ± 3.5

Table A.5. Equivalent toxic concentration of each chemical compound based on the EC50 found for each species.

Chemical compounds	Average composition of plastic leachates 1 and 2	*Pinctada margaritifera* (EC50 = 10.2 g/L)	*Saccostrea cucculata* (EC50 = 71.5 g/L)	*Holothuria whitmaei* (EC50 = 6.6 g/L)	*Litopenaeus stylirostris* (EC50 = 50.5 g/L)	*Tripneustes gratilla* (EC50 = 43.6 g/L)
Phenanthrene	**21.37**	2.18	15.28	1.41	10.79	9.315
anthracene	**2.67**	0.27	1.90	0.18	1.35	1.16
fluoranthene	**4.65**	0.47	3.32	0.31	2.35	2.03
pyrene	**6.93**	0.71	4.95	0.46	3.50	3.02
∑ **HAPs**	**35.61**	3.63	25.46	2.35	17.98	15.52
Beta-BHC	**1.35**	0.14	0.97	0.09	0.68	0.59
gama bhc	**0.84**	0.09	0.60	0.06	0.42	0.37
acetochlore	**425.42**	43.39	304.17	28.08	214.83	185.48
metolachlore	**78.37**	7.99	56.03	5.17	39.57	34.17
chlorpyrifos	**27.03**	2.76	19.32	1.78	13.65	11.79
endosulfan alpha	**3.93**	0.40	2.80	0.26	1.98	1.71
endosulfan beta	**1.77**	0.18	1.27	0.12	0.89	0.77
∑ **Pesticides**	**538.7**	54.95	385.17	35.55	272.04	234.87
DBP	**169.46**	17.28	121.16	11.18	85.57	73.88
∑ **Phtalates**	**169.46**	17.28	121.16	11.18	85.57	73.88
4 tOP	**6.21**	0.63	4.44	0.41	3.14	2.71
4-OP	**1.19**	0.12	0.85	0.09	0.60	0.52
NPs	**88.35**	9.01	63.17	5.83	44.62	38.52
∑ **Alkylphenols**	**95.75**	9.77	68.46	6.32	48.35	41.74
TOTAL	**839.51**	**85.63**	**600.25**	**55.41**	**423.95**	**366.02**

2.3 DISCUSSION : COMPARAISON DE LA COMPOSITION DES LIXIVIATS DE PLASTIQUES AVEC L'ETUDE DE GARDON ET AL., (2020A)

La communauté de scientifiques travaillant sur la thématique de la pollution plastique, s'accorde à dire que l'émergence rapide et globale de cette problématique s'est faite au détriment de la mise en place de protocoles standardisés (DCSMM). Si l'on prend en exemple les travaux s'intéressant à l'impact des plastiques via des procédés de lixiviation, on remarque que bien souvent les conditions pour obtenir les lixiviats de plastiques (le temps, la température, la vitesse d'agitation, la lumière, la taille des plastiques…) diffèrent. Ce manque de protocoles normés rend difficile, voire impossible, la comparaison des résultats de ces travaux (Leistenschneider et al., 2023).

Ici, nous avons donc fait le choix d'utiliser à l'identique le protocole de lixiviation réalisé par Tony Gardon (Gardon et al., 2020a) afin de pouvoir confronter nos résultats avec ceux obtenus précédemment. Ainsi les mêmes plastiques ont été utilisés, il s'agissait de cordes et collecteurs (en polypropylène et polyéthylène) perlicoles neufs. Après avoir été découpé, ces MPs perlicoles ont été incubés dans les mêmes conditions que celles utilisées pour l'un des lixiviats réalisé par Gardon et al., (2020a). Nos lixiviats obtenus, le lixiviat contrôle (CL) et lixiviat de plastique perlicole (PPL) ont été envoyés dans le même laboratoire d'analyse que les lixiviats de Gardon et son équipe quelques années auparavant. Cependant, la comparaison de ces produits de lixiviation supposés similaires, montre une grande une variabilité de composition.

En effet, si l'on observe le Tableau 4 ci-dessous, on note une concentration totale de POPs et additifs relargués par les plastiques de 6701.56 ng/L dans l'étude de 2020, bien supérieure à celle obtenue pour notre lixiviat plastique de 839.52 ng/L. La principale différence de cette concentration totale provient de la concentration des phtalates, à hauteur de 6 680.92 ng/L pour la somme des différents phtalates Diméthyl phtalate et Diéthyl phtalate (DMP, DEP), en 2020 pour un lixiviat contenant uniquement 169.46 ng/L de Di-butyl phtalate dans nos travaux. La concentration de pesticides est également très différentes entre ces deux lixiviats. En effet, la somme totale de pesticide dans nos travaux est de 538.71 ng/L, majoritairement de l'acétochlore (425.4 ng/L), du métolachlore (78.37 ng/L), et du chlopyrifos (27.03 ng/L) comparée à une concentration de 21.69 ng/L de pesticides totaux dans le lixiviat obtenu dans les travaux

antérieurs de Gardon. Une quantité plus élevée de PAH, ou hydrocarbures aromatiques polycycliques, a été identifiée dans notre lixiviat (35.61 contre 10.84 ng/L). On note aussi la présence d'alkylphénols, majoritairement des nonylphénols à 88.36 ng/L dans notre lixiviat alors qu'aucune trace d'alkylphénols n'avait été reportée dans le lixiviat de l'étude de Gardon.

Malgré des matériaux et des protocoles identiques, des facteurs extérieurs semblent donc entrer en jeu et expliqueraient les différences de composition obtenues. Parmi ces facteurs, le plus probable correspondrait aux plastiques eux-mêmes. Bien que les plastiques utilisés dans ces deux études soient des cordes et collecteurs standards en PE et PP utilisés en perliculture, ils n'ont pas été produits au même moment et peut être pas par la même entreprise. Nous savons que les matériaux perlicoles sont produits en Chine. Mais il n'a pas été possible d'obtenir plus d'information par le distributeur local Aming concernant l'usine de provenance de ces matériaux. Nous ne savons pas non plus si les fournisseurs chinois ont changé au cours de ces dernières années. Ainsi on ne peut exclure une différence dans les procédés de fabrication entre les plastiques utilisés par Gardon et les nôtres. Des additifs différents en nature et en concentration auraient pu être utilisés (Lithner et al., 2012). Une autre piste pouvant expliquer la diversité des POPs, notamment la grande concentration des pesticides dans notre lixiviat, serait les phases de stockage et de transport durant lesquelles les plastiques ont pu accumuler divers contaminants chimiques extérieurs (Wang et al., 2016).

Ainsi, les différences de compositions observées entre des lixiviats réalisés à partir de matériaux perlicoles standards avec un protocole de réalisation identique et une analyse chimique réalisée dans le même laboratoire extérieur, montre bien la difficulté de reproductibilité de la lixiviation plastique. L'utilisation d'un protocole standard dans les études de toxicité doit donc systématiquement être couplé à une caractérisation chimique complète des lixiviats de plastiques.

***Table 4. Comparaison de la composition de lixiviats**. Ces deux lixiviats ont été obtenus après 24h de lixiviation de plastiques perlicoles de types corde et collecteurs neufs en PE et PP de notre étude et de celle de Gardon et al., 2020a.*

	Goulais 2023		**Gardon 2020**	
	Contrôle (ng/L)	**Lixiviat plastique (ng/L)**	**Contrôle (ng/L)**	**Lixiviat plastique neuf 24H (ng/L)**
Fluorence	0	0	1.63	0
Phenanthrene	0	21.37	2.12	1.44
Fluoranthene	0	4.645	2.63	9.4
Anthracene	0	2.665	0	0
pyrene	0	6.93	0	0
HAPs	0	**35.61**	6.38	**10.84**
Beta-BHC/ beta HCH	0	1.35	0	2.15
gama- BHC/ HCH	0	0.84	1.63	1.38
acetochlore	0	425.415	1.72	0
metolachlore	0	78.365	NA	NA
chlopyrifos	0	27.035	0	1.54
endosulfan alpha	0	3.93	0.16	0.37
endosulfan beta	0	1.77	NA	NA
other	0	0	18.18	2.11
Pesticides	0	**538.705**	21.69	**7.55**
DBP (di-butyl-phtalate)	0	169.455	NA	NA
DMP	0	0	1504.79	4939.96
DEP	0	0	339.34	1740.96
BBP	0	0	470.06	0
Phtalates	0	**169.455**	2314.19	**6680.92**
4 tOP	0	6.21	NA	NA
4 OP	0	1.185	NA	NA
NPs (Nonylphénols)	13.535	88.355	NA	NA
Alkylphénols	13.535	95.75	0	0
PCB28	0	0	0	2.25
PCB	0	0	0	2.25
BDE 47	0	0	2.45	0
BDE	0	0	2.45	0
Total	**13.535**	**839.52**	**2344.71**	**6701.56**

2.4 CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Cette étude a permis de mettre en évidence la toxicité des plastiques perlicoles neufs sur plusieurs organismes tropicaux qui représentent un intérêt à la fois écologique et économique. Toutes les espèces testées ont montré une sensibilité en présence de lixiviats de plastiques traduite par des pourcentages d'anomalies de développement larvaire significativement différents de la condition contrôle. Ces expériences de toxicités aigues alertent donc sur le danger potentiel que représente l'immersion des plastiques perlicoles neufs.

A travers le calcul des CE50 de chaque espèce, nous avons mis en évidence des différences de sensibilité entre ces espèces. Ces résultats, nous montrent l'importance de considérer dans le futur une approche toxicologique multi-spécifiques plutôt que mono-spécifique. Cela permettrait de rendre compte d'effets potentiellement néfastes de pollutions chimiques à une échelle plus écosystémique.

En outre, ces travaux ont permis l'établissement de protocoles pour des espèces tropicales peu ou pas étudiées en toxicologie. Ces protocoles sont donc un premier pas pour l'établissement de normes toxicologiques adaptées aux espèces tropicales. Les espèces à préconiser dans le cadre d'un suivi de l'état écologique de zones d'intérêt seraient *Saccostrea cucullata* et les holothuries *Holothuria whitmaei* qui possèdent de nombreuses caractéristiques avantageuses pour la réalisation de tests toxicologiques en microplaques. Les holothuries ont également montré une sensibilité élevée face au lixiviat de plastiques perlicoles. Compte tenu des enjeux économiques que représente la filière perlicole, il paraît également indispensable de réaliser ces suivis en utilisant des larves d'huître perlière *Pinctada margaritifera*.

En dernier lieu, maintenant que la liste des composés chimiques relargués précocement par les plastiques perlicoles est disponible, il faudrait dès à présent étudier la toxicité de ces éléments. L'évaluation de cette toxicité doit se faire de manière individuelle et en mixture. En effet, de précédentes études ont mis en évidence la possibilité d'effets synergiques aggravants entre certaines molécules (Dupraz et al., 2018, 2019; Sol Dourdin et al., 2023). Les résultats de ces tests permettront *in fine* d'établir une liste des produits identifiés comme dangereux pour le développement des espèces marines. Grâce à ces données, il sera ensuite possible de mettre en garde sur l'utilisation de ces composés dans les procédés de fabrication des plastiques à

destination d'activités aquacoles. Si l'on souhaite protéger les lagons polynésiens, il en va ensuite de la responsabilité des instances politiques locales à mettre en place des contrôles et des interdictions concernant l'importation de matériaux plastiques contenants ces additifs dangereux.

3 APPROCHE EN MESOCOSMES

3.1 PREAMBULE

Le plastique est un support idéal pour de nombreuses espèces benthiques ou celles à la recherche d'un abri. Dès lors qu'un plastique est immergé il va commencer à être colonisé par une succession de communautés bactériennes jusqu'à obtenir un biofilm mature (Lee et al., 2008). L'ensemble d'organismes se développant à la surface d'un plastique est appelé « Plastisphère » (Zettler et al., 2013). De nombreuses espèces animales, végétales et bactériennes ont déjà été décrites sur les déchets plastiques flottants marins (Du et al., 2022). Par ailleurs, des études ont décrit que les plastiques pouvaient jouer un rôle important dans la propagation d'espèces invasives et/ou pathogènes dans le compartiment marin (Beloe et al., 2022; Browne et al., 2015).

Afin de caractériser la plastisphère colonisant les plastiques perlicoles et conclure de la présence de potentiels pathogènes pour les organismes marins, nous avons envisagé une expérience en mésocosmes. Cet outil, le mésocosme, est parfait pour établir le chainon manquant entre les expérimentations en laboratoire et les phénomènes observés *in situ* (Bruckner et al., 1995). Les écosystèmes reproduits en aquarium permettent de tendre vers la complexité des interactions qui régissent la nature mais tout cela en conditions contrôlées, facteur essentiel à l'établissement de conclusions scientifiques tangibles.

Pour notre expérimentation nous avons imaginé reproduire des écosystèmes tropicaux simplifiés. Nos aquariums ont été conditionnés selon la méthode dite de « Jaubert » (Jaubert,

2008). Cette méthode qui se veut la plus naturelle possible en aquariologie, préconise une utilisation massive de substrat biologique afin de favoriser le développement de communautés bactériennes benthiques complexes. La colonisation de ces bactéries va permettre une cyclisation de l'aquarium efficace sur le long terme et une réduction importante de matériels exogènes artificiels même pour le maintien d'aquariums d'eau de mer.

Nous avons donc disposé, dans nos neufs aquariums du sable récupéré au large de l'Ifremer ainsi que des roches coraliennes. Ces supports biologiques ont été rincés dans plusieurs bains d'eau douce puis séchés au soleil pendant plusieurs jours afin de les stériliser. Ils ont ensuite été répartis dans nos bacs en proportions égales et homogènes. Une fois que les paramètres de nos aquariums étaient stables (au bout d'une année environ), nous avons pu procéder à l'introduction de nos animaux. Dans chaque aquarium ont donc été disposés six huîtres perlières *Pinctada margaritifera* (hauteur d'environ 6 cm), six bénitiers *Tridacna maxima* (largeur d'environ 4 cm), neuf boutures de coraux provenant de trois colonies mères différentes de l'espèce *Pocillopora damicornis* (hauteur d'environ 6 cm).

Cette expérience visait à caractériser la pollution biologique potentiellement induite par la présence de plastiques perlicoles dans une reproduction simplifiée d'un écosystème marin lagunaire. Parmi les objectifs principaux, nous souhaitions déterminer si la présence de plastiques dans l'environnement pouvait favoriser la prolifération de certaines bactéries et affecter l'état de santé des organismes marins présents. Les résultats de cette étude sont présentés dans l'article ci-dessous (Article 2), actuellement soumis à la revue *Frontiers in Marine Science*.

3.2 ARTICLE SOUMIS – *FRONTIERS IN MARINE SCIENCE*

Plastic is in the details: the impact of plastic pollution though a mesocosm experiment

Maeva Goulais[1]*, Sophie Darinot-Thomas [1], Guillaume Mitta [1], François Galgani [1], Denis Saulnier [1] and Laura Benestan [1,2]

[1] Ifremer, Université de la Polynésie Française, ILM, IRD, UMR 241 SECOPOL, F-98719 Tahiti, French Polynesia, France.

[2] Ifremer, RDT, F-29280, Plouzané, France

Keywords

Plastic pollution / Bacteria / Abundance/ Mesocosms/ Pearl farming

Abstract

Microbial diversity plays key role in marine ecosystems, and quantifying the impact of plastic pollution on these organisms is essential to better anticipate and manage threats to these fragile ecosystems. In nine simplified tropical ecosystems (i.e. mesocosms), we tested a concentration gradient of macroplastics reflecting the amount of plastic released by pearl farms. In each mesocosm, we collected bacterial samples from three different compartments: macroplastics, water and animals, *Tridacna maxima*. The objective was to test how plastic concentration influences the bacterial community, whether certain bacteria respond similarly across these compartments, and to define a threshold concentration of plastic that would impact marine bacteria. We observed that over 70 % of the variability in the bacterial community was explained by the type of sample (51.8 %) and time (19.4 %). On a finer scale, we found that the abundance of 33 bacterial genera was significantly correlated with plastic pollution, with the highest concentration (4.05 g/L) accounting for the vast majority of the signal. The occurrence of these bacterial genera increased with high plastic concentrations, suggesting imbalanced

competitive relationships favoring less pollutant-sensitive genera. Some of these bacteria were shared across compartments and have known ecological functions, including plastic degradation and pathogenicity. Our results align with prior studies that warn plastics can alter microbial interactions and promote the emergence of pathogenic families.

Introduction

The annual global production of plastic reached a record of 390 million tons in 2021 (PlasticEurope, 2022). A portion of this plastic will have a poorly managed end-of-life and will end up in the oceans. In 2023 alone, it is estimated that 0.5 million tons of plastics have surged from continents into the oceans (Kaandorp et al., 2023). Once at sea, this waste causes numerous disruptions to marine ecosystems and negatively impacts ecosystem services (Beaumont et al., 2019). Grim images of marine mammals, turtles, birds, and even sharks entangled in ghost nets or choking on food packaging are all too common (Gall & Thompson, 2015; Laist, 1997). However, these consequences represent only the emerged (albeit submerged) and highly publicized part of the iceberg of detrimental effects that plastics have on the marine environment. Plastic also affects the smallest life in our oceans, marine microbes that play a pivotal role in the marine food web, photosynthetic primary production, and biogeochemical cycling (Lear et al., 2021).

Research efforts on the species making up the "plastisphere", i.e. the collective organisms colonizing the surface of plastics, are currently underway, while only a few studies have examined the impact of plastics on marine microbial communities (Tetu et al., 2020). Most studies linking marine bacteria to plastic pollution primarily investigate the dynamics of bacterial colonization on plastics and/or the potential of specific bacterial genera to degrade polymers (Jacquin et al., 2019). A less studied, yet not harmless, effect of plastic is its ability to serve as a surface for the colonization and transportation of potentially pathogenic microbial species (Dussud et al., 2018; Lemonnier et al., 2022), a phenomenon referred to as the "raft effect". Understanding the impact of plastics on the bacterial community composition and identifying which pathogenic microbial groups use plastic as a new niche or benefit from plastic pollution will help to further pinpoint polluted ecosystems (Tetu et al., 2020). These gaps in our understanding become even more crucial when considering the significance of bacteria in all major marine biogeochemical cycles. For instance, a recent study demonstrated a significant decrease in the photosynthetic activity of the ocean’s most abundant photosynthetic bacteria,

Prochlorococcus, due to a range plastic leachate dilutions, from 3.125 % to 50 % HDPE (high density polyethylene) and from 0.25 to 10 % PVC (polyvinyl chloride) in relation to the volumetric ratio of seawater (Tetu et al., 2019).

In Polynesia, the pearl farming sector represents the country's second largest economic resource after tourism (DRM, 2022). Most of the installations used in pearl farms are made of plastic. The extensive use of plastic, coupled with poor waste management, has made pearl farming one of the identified sources of macro and microplastic litter (< 5 mm) in Polynesian atolls (Andréfouët et al., 2014). A recent study quantifying the amount of waste generated annually by pearl farming practices revealed that 369 tons per year of plastic waste were generated by this activity on Mangareva atoll alone in the Gambier archipelago (Crusot et al., 2023). The deleterious effects of physical pollution caused by the presence of plastic microbeads have already been demonstrated on energy balance, gametogenesis and transcriptomic disturbances in *Pinctada margaritifera*, the Polynesian pearl oyster (Gardon et al., 2018; Gardon et al., 2020b). Chemical pollution induced by the leaching products of new pearl farming plastics on marine organisms has also been singled out, causing an increased mortality and malformations during larval development in tropical species (Gardon et al., 2020a). As pearl farming occurs in the vast majority of Polynesian lagoons, it is essential to characterize the potential impacts of chemical pollution generated by this activity on the marine ecosystem. Moreover, identifying a sentinel species exhibiting early markers of exposure to contaminants released by plastics is crucial for setting up a future monitoring network to assess the state of pollution in lagoons (Multisanti et al., 2022).

To date, studies investigating the impact of chemical pollution arising from pearl farming materials have focused on pearl oysters, *Pinctada margaritifera* (Gardon et al., 2020a). No study has yet addressed the impact of plastic concentration on taxonomic composition and abundance of marine bacteria communities in the context of pearl farming. To conduct our experiments, we established nine mesocosms representing the marine ecosystem of French Polynesia since mesocosms has been proved to be an efficient tool to investigate plastic impact on the marine ecosystem (Lott et al., 2020). Mesocosm, i.e. defined as a "bounded and partially enclosed outdoor experiment to bridge the gap between the laboratory and the real world in environmental science" (Bruckner et al., 1995; Crossland & La Point, 1992; Odum, 1984) approaches offer the possibility to implement scenarios that are more realistic than *in vitro* experiments, while enabling better control and understanding, or even minimization of the

variations observed in natural environments (Joachim et al., 2009; Venkatarama Sharma et al., 2021). This facilitates the interpretation of results following the introduction of pollutants, represented here by pearl farming plastics.

In this study, we first sought to evaluate the influence of plastic pollution on the bacterial community associated with the plastic substrate, the water, and the microbiome of the giant clam. Our second objective was to identify bacteria whose abundance varies significantly with plastic concentration, either by being favored or inhibited by plastic, and to investigate whether some of these bacteria are shared between plastic substrate, water, and the microbiome of the giant clam. Overall, our study aims to fill the gap in understanding the impact of plastic pollution on bacterial community assemblages in both inert and living environments, from bacteria to entire communities.

1. Material and methods

2.1 Setting up the mesocosms

Nine mesocosms with a volume of 275 L for the main tank and 70 L for the settling tank were designed following the Jaubert method (Jaubert, 2008). The Jaubert method uses a large quantity of substrate to promote biological water filtration through the activity of an active bacterial community. Here, the substrate consisted of sand and coral stones taken from Vairao lagoon (Tahiti, French Polynesia). After sterilizing the sand and rocks through successive treatments with fresh water and UV radiation, we added 65 L of sand and 17 kg of rocks (10 kg in the main tank and 7 kg in the settling tank) to each mesocosm. Following the addition of sand and rocks, we calculated the available water volume in each tank to be 270 L. The parameters of the tanks were maintained at the following values, the temperature was 27 ± 0.3 °C, the pH was 8 ± 0.1, and the salinity was 36.1 ± 0.2 psu. The lighting was turned on for 8 hours per day. After one year of cycling, allowing for the establishment of denitrifying bacteria in the substrates, we introduced marine organisms. In each mesocosm six giant clams *Tridacna maxima* (shell length: 4 ±1 cm) were added. To rid them of potential parasites, the clams underwent a one-minute freshwater bath before being placed in the mesocosms. After observing several cases of fireworm predation during the acclimation phases which appear to originate from an initial batch of giant clams that had not undergone parasite removal, we decided to

suspend all the animals to prevent direct contact with the substrate (Figure 1). The concentrations of plastics per mesocosm are shown in Table 1.

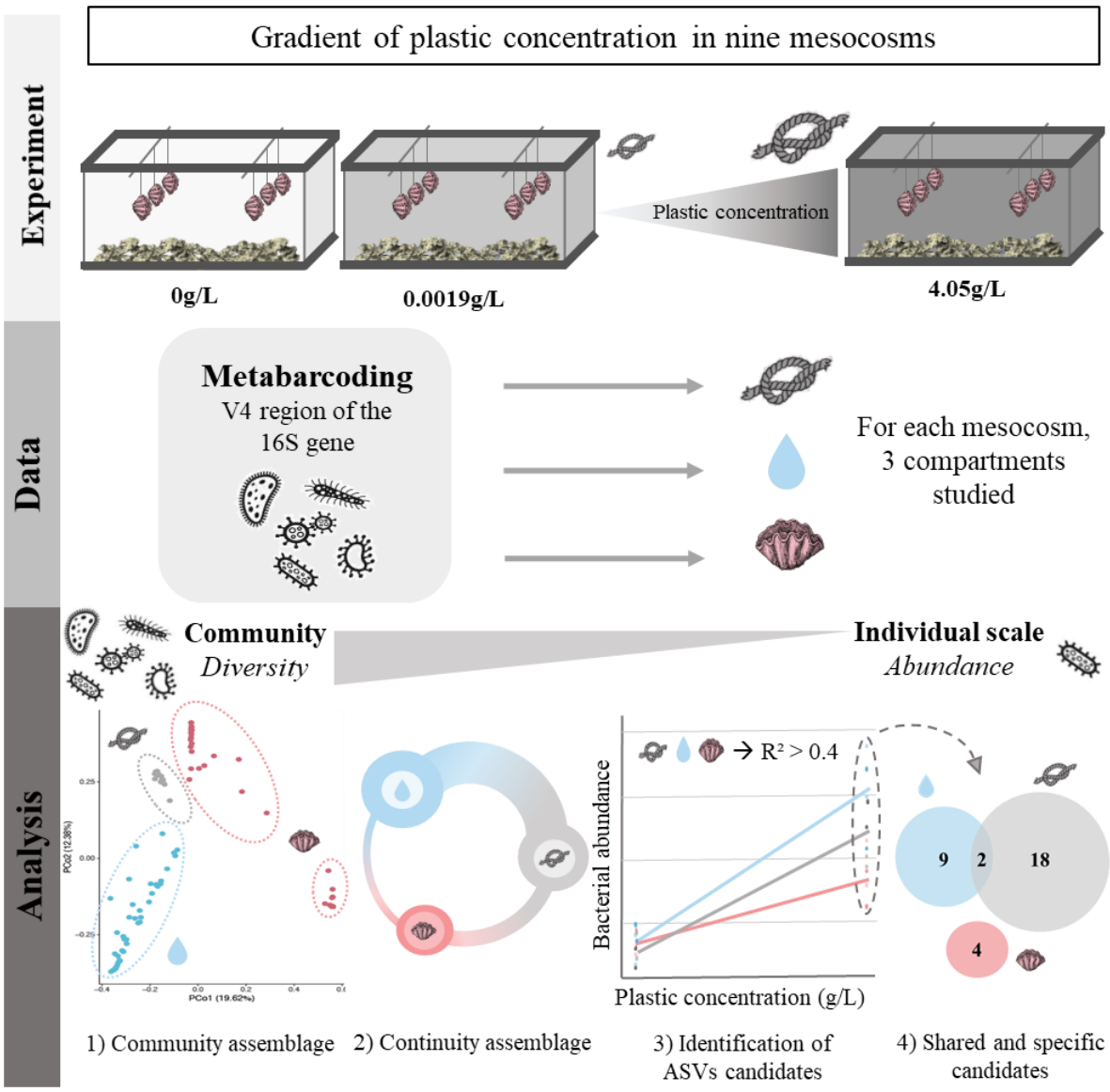


Figure 1. Experimental, data and analysis process.

2.2 Species of interest

Bivalves have already proven to be reliable bio-indicators for assessing the pollution status of environments (Ding et al., 2021; Multisanti et al., 2022; Prokić et al., 2021). Sentinel

species must meet the following criteria: wide distribution range, a well-known biology, sedentary nature, ability to provide early alerts, key function in the ecosystem, homogeneous response to pollutants, and the existence of identifiable toxic effects associated with the degree of pollution (J. Li et al., 2019). By meeting several of these criteria, *Tridacna maxima*, a tropical giant clam, may be an ideal sentinel species. This sessile filter-feeder species is widely distributed in French Polynesia (Andréfouët et al., 2005; Gilbert et al., 2005). *Tridacna maxima* is already employed as a sentinel for Metallic Trace Elements (MTE) in Polynesia (Godéré et al., 2023). Furthermore, research teams have demonstrated that in polluted areas, the quantity of zooxanthellae in the mantle and the frequency of giant clam valve movements, as monitored by valvometry, serve as reliable indicators of environmental pollution by contaminants such as lead (Killam et al., 2023; Yaqin et al., 2020). It has also been demonstrated that this species is capable of bioaccumulating microplastics (Arossa et al., 2019). Negative effects, such as oxidative stress and physiological alteration resulting from plastics, have been observed in other bivalve species exposed to contaminated environments (Sureda et al., 2018). Moreover, the giant clam requires a limited amount of nutrient, which aligns with the Jaubert method used here (i.e., low water renewal).

2.3 *Plastics used and concentration calculations for mesocosms*

The lowest concentrations in this range (i.e., 0.0019 g/L) were estimated based on the quantities of waste produced by pearl farming in certain Polynesian atolls (DRM, 2015). However, the distribution of plastics in lagoons can be highly heterogeneous due to complex lagoon hydrodynamics (Bruyère et al., 2024). As a result, local plastic concentrations may be significantly higher than global estimates at the lagoon scale, with certain plastic accumulation zones acting as hotspots for chemical release (Gardon et al., 2021). To encompass a broad spectrum of potential plastic concentrations in pearl farming lagoons, we selected a range from 0.0019 to 4.0500 g/L, using a base-3 logarithmic interval between each concentration (Table 1). This range includes plastic concentrations typically tested in toxicological studies on plastic leaching (Gardon et al., 2020a; Ke et al., 2019; Klein et al., 2021; H. Wang et al., 2023).

The plastics used in this experiment were supplied by a pearl farm on the Mangareva atoll in the Gambier Archipelago and consisted of standard new ropes and collectors commonly used in pearl farms across French Polynesia. The collectors are spongy plastic structures used for

recruiting oyster spat. Previous RAMAN analyses confirmed that these materials are composed of polyethylene (PE) and polypropylene (PP) (Gardon et al., 2020a).

2.4 Chemical analysis

After two months of experimentation, we collected 500 mL of seawater from each mesocosm. The samples were subjected to chemical characterization in duplicate at CEDRE (Center for Documentation, Research, and Experimentation on Accidental Water Pollution, Brest, France) employing gas chromatography (HP 7890N, multifunction injection Combipal MPS2, Gerstel) coupled with tandem mass spectrometry (GC/MSMS). The interface temperature was maintained at 300 °C, with a pre-programmed injection ranging from 50 °C (0.5 min) to 280 °C (6 min) at a rate of 15 °C/min. This setup was integrated with a temperature-programmed injector (Cooling Injection Device, Gerstel: -10 °C (0.05 min) to 300 °C (10 min) at 12 °C/s). The oven temperature program started at 70 °C (0.5 min) to 150 °C at 20 °C/min, followed by an increase to 320 °C (5 min) at 7 °C/min. Helium served as the carrier gas, and the capillary column employed was an RXi 5-ms (Restek, Bellefonte, USA). The chromatograph was linked to a tandem mass spectrometry detector (Agilent 7000 Triple Quad).

Quantitative analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs), Polychlorinated Biphenyls (PCBs), Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs), pesticides, and additives was carried out using internal standard calibration in Multiple Reaction Monitoring (MRM) mode, incorporating two transitions for each compound (Quantifier/Qualifier). The acquisition frequency for each fragment was set at 2 cycles per second. MassHunter Workstation V10.0 software (Agilent Technologies) used to reprocess of chromatograms in the analysis of organic compounds.

1.5 Experimental design

Prior to introducing the plastic into the mesocosms, two liters of water from each mesocosm were collected, filtered through 0.22 µm pore size polycarbonate membrane filters, and stored in lysis buffer (2 % CTAB, 1.4 M NaCI, 100 mm Tris-HCl pH 8, 20 mM EDTA pH 8 and 200 µg/mL) at -80 °C after grinding and digestion with proteinase K. One giant clam from each mesocosm was also sacrificed at T0, a portion of their muscle was extracted and

frozen at -20 °C while their gills were preserved in lysis buffer CTAB 2 % at -80 °C. Growth rate, a biological parameters of bivalves known to be impacted by the presence of plastic in the environment (Détrée & Gallardo-Escárate, 2018), was measured by recording the shell length of all the giant clams at different time points during the experiment using a caliper. The growth rate was calculated as the difference between initial and final shell lengths divided by the number of days in the experiment. The plastics were then randomly immersed in the mesocosms, making the initial time of the experiment (T_0). Every fifteen days (i.e. T1, T2, T3), and continuing until the end of the experiment, two liters of water from each mesocosm were collected and processed as described above. After 60 days of plastic immersion, the experiment was stopped (i.e. T4). All remaining giant clams were sacrificed, and their gills and muscles were collected and preserved as previously. Samples were also collected from the macroplastics (ropes and collectors) and the water in each mesocosm. All samples were stored at -80 °C in 2 % CTAB lysis buffer awaiting DNA extraction.

2.6 Glycogen quantification

The presence of plastic in the environment can result in adverse health impacts on the energy balance of marine organisms such as pearl oyster *Pinctada margaritifera* (Gardon et al., 2018). One of the proxies chosen to assess the health of the giant clams was the quantification of their muscle glycogen reserves. After thawing the giant clam muscles, 100 mg were sampled, transferred to Eppendorf tubes to which 500 µL of Trichloroacetic Acid (TCA) and 3 stainless steel beads were added. The samples were ground for 5 minutes with a grinder set to 30 beats per second. Once the sample was ground, 2.5 mL of 15 % TCA was added. The sample was then incubated at 4 °C for one hour. The tube was then centrifuged for 10 minutes at 3 000 g and at a temperature of 4 °C. After centrifugation, 1.5 mL of the supernatant was recovered from the tube and supplemented with 12 mL of 96 % ethanol. The samples were then stored at 4 °C for 12 hours with agitation (shaking platform). The next day, the tubes were centrifuged at 4 °C for 30 minutes at 4 000 g. The supernatant was removed, and 200 µL of pure water was added to the pellet before a brief vortex to re-solubilize the pellet (containing glycogen). Glycogen quantification was performed through a colorimetric reaction with anthrone-sulfuric acid. The absorbance of the resulting colored complex was measured at a wavelength of 620 nm (FLUOstar, BMG Labtech).

2.7 Statistical Analyses

The normality of the data was tested using a Shapiro-Wilk test, and homoscedasticity was assessed using a Levene test on the growth rate and glycogen concentration in the muscle tissues of giant clam individuals. As normality conditions were not met in our datasets, we conducted a Kruskal-Wallis test to determine if there were significant differences in the growth rate and glycogen concentration among the giant clams subjected to various plastic concentrations. The significance level chosen for these analyses was a P-value < 0.05. All these analyses were performed using R v4.0.5.

2.8 DNA extraction, library preparation and 16S rRNA gene sequencing

Bacterial assemblages were assessed for three compartments: the surface of plastics, the water column and the giant clams (*Tridacna maxima*). Samples for DNA extraction consisted of polycarbonate PCTE membrane filters of 2 L of water, 50 to 300 mg of gills tissue, and plastic smears respectively. DNA was extracted using CTAB (cetyl trimethylammonium bromide)-based extraction protocol adapted from (Winnepennickx et al., 1993). Briefly, 600 µL of CTAB 2 % buffer was added to each sample tubes (filters, cotton swabs and clam gill tissue) as well as three sterile stainless-steel balls of 3 mm-diameter. Tubes were then immediately placed in a vibrating ball mill (Mixer Mill MM400, Retsch, Haan, Germany) for grinding at 30 Hz for 3 minutes and further incubated overnight at 60 °C. After thawing the samples at room temperature, an equal volume of phenol-chloroform-isosoamyl alcohol (25:24:1) was then added to each sample. After gentle inversion of tubes manually samples tubes were centrifuged for 10 minutes at 12 000 g and 400 µl of the aqueous phase transferred to a new tube. DNA was precipitated by adding an equal volume of isopropanol and incubated at room temperature 10 minutes after gentle inversion of tubes. After centrifugation for 20 min at 12 000 g, the supernatant was discarded and the pellet washed with 70 % ethanol. The pellet was air-dried for 10 minutes and resuspended in 50 µl of DNase-free water.

After DNA extraction, the V4 region of the bacterial 16S SSU rRNA gene was amplified using the primers 515F (5'-GTGYCAGCMGCCGCGGTAA-3') (Parada et al., 2016) and 806R (5'-GGACTACNVGGGTWTCTAAT-3') (Apprill et al., 2015). PCR products were submitted for 2x250 paired-end sequencing on an Illumina MiSeq platform at the Genome Quebec platform, Montréal (Canada). Samples with fewer than 10 000 reads were not considered for subsequent analyses. Sequences have been deposited in the ENA database (BioProject: PRJEB74057).

2.9 Data processing

The fastq files generated by Illumina MiSeq were processed using QIIME2 v2022.11 (Bolyen et al., 2019) and DADA2 (Callahan et al., 2016). Primers were removed from the demultiplexed sequences using Cutadapt (Martin, 2011) (via q2-cutadapt). DADA2 parameters were selected using the FIGARO tool [44]: trim Position [221,229] and max Expected Error [1,1]. The following steps of the DADA2 pipeline were performed using the default parameters (via q2-dada2). Amplicon sequence variants (ASVs) clustering was performed using dbOTU3 (Olesen et al., 2017) with the default settings (via q2-dbOTU3). Taxonomy was assigned to ASVs using the q2-feature-classifier (Bokulich et al., 2018) classify-sklearn naive Bayes taxonomy classifier against the SILVA138 (Quast et al., 2013) pre-trained classifier for the V4 region of the 16S gene.

2.10 Principal Coordinates Analysis (PCoA)

Eukaryotic, mitochondrial, chloroplast and unidentified sequences were removed from the dataset. ASVs with a relative abundance greater than 0.5 % and present in fewer than three samples were filtered out using the phyloseq v1.42.0 R package and a custom function. First, we estimated the Bray-Curtis distance matrix from the relative abundance dataset (samples in rows, ASVs in columns) based on the recommendation of Laporte et al., (2021) for eDNA metabarcoding. Then, we performed a Principal Coordinate Analysis (PCoA) using the *pcoa* function available in ape v.5.7-1 R package with Lingoes correction of negative eigenvalues, as recommended by Legendre and Anderson (1999). The percentage of variation and significance of each PCoA axis were assessed using the *pcoa.sig* function available in the R package PCPS v1.0.7.

2.11 Distanced-based Redundancy Analysis

We conducted a distance-based Redundancy Analysis (db-RDA), a statistical tool developed by Legendre and Anderson, (1999), to assess the influence of each experimental factor - i.e. time of the experiment, type of the sample, plastic concentration - on community assemblage variation. The following ‘time of the experiment’ and ‘type of the sample’ were transformed into dummy variables using the R package fastDummies v.1.7.3. Collinearity among explanatory variables was assessed before running the models. Both an empty model and a complete model were built to select the significant variables to retain, using the *ordistep* function (with the direction set to “both”), available in the R package vegan v2.6-4. For the

final db-RDA model, significance of each variable and axis was assessed using the *anova* function with 10 000 permutations. The global adjusted R^2 value and significance were reported for the final model. All statistical analyses were conducted in R 4.2.3 (R core team 2022).

2.12 Linear regression analysis to detect ASV with relative abundance influenced by plastic concentration

By considering each type of sample separately (i.e. plastics, water and the giant clams), we conducted a linear regression analysis to test the relationship between the relative abundance of each ASV and the gradient of plastic concentration. From this analysis, we selected only the ASVs showing a significant correlation with the *cor.test* function (P-value < 0.01) and a high R^2 ($R^2 > 0.4$). These ASVs will be referred to as candidate bacteria for the plastic response. We extracted the genus of each candidate to evaluate the representativity of the genus and to determine if some candidate's genus were shared among different type of samples. The results were represented using the ggplot2 v.3.4.2 R package. To evaluate the number of ASVs shared among all samples and those unique to each sample, we used the UpSet R v.1.4.0 R package (Conway et al., 2017).

2.13 Dendrogram

The pairwise distances of the DNA sequences associated with the selected candidate bacteria were calculated using the "K80" model with the *dist.dna* function available in the ape v.5.7-1 R package. The dendrogram was then constructed using the *hclust* and *as.dendrogram* functions from the stats v4.2.2 R package. We used FigTree v1.4.4, a graphical viewer, to visualize the tree (http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/).

3. Results

3.1 Global bacterial community diversity

The overall dataset comprises 104 samples (16, 42 and 46 samples of plastic, water and *T. maxima*, respectively) with sufficient sequencing depth (> 10 000 reads) (Figure S1) including a total of 10 710 bacterial ASVs. To keep only representative ASVs for describing bacterial community, we selected 1 716 ASV present in relatively high abundance (i.e. relative abundance > 0.5) and in at least three out of 104 samples. A Principal Coordinates Analysis (PCoA) was then performed to reflect the overall variation of the bacterial community (Figure

2). On the first significant Principal Coordinate axis (PCo1; 19.62 %), water samples were delineated from *Tridacna maxima* samples, while on PCo2 (12.38 %) plastic samples were distinct from water samples. Notably, we also observed that *T. maxima* samples formed two separate groups on PCo1 and PCo2 (Figure 2). The first group of *T. maxima* individuals, located on the right of PCo1 (PCo1 > 0.4 and PCo2 < 0.00), corresponds to samples with low bacterial diversity and two dominant ASVs (ASV1 and ASV2: both from the *Endozoicomonadaceae* family) (Figure 2 and Figure S2). The second group (PCoA1 < 0.4 and PCo2 > 0.00), located on the left of the PCo1 axis, comprises *T. maxima* samples with more diverse and evenly distributed bacterial communities (Figure 2 and Figure S2). These two groups include giant clams from different plastic concentrations and time points (i.e. T0, T4), indicating that neither plastic concentration nor time explains observed the pattern. Kruskal-Wallis statistical tests on growth rate and muscle glycogen concentration (i.e. proxies for the physiological status of our animals) between these groups were not significant (P > 0.01, Figure S3 and S4). Similarly, the correlation between bacterial diversity and growth rate was non-significant (R^2 = -0.22, P-value = 0.25) as was the correlation with muscle glycogen concentration (R^2 = 0.12, P-value = 0.56).

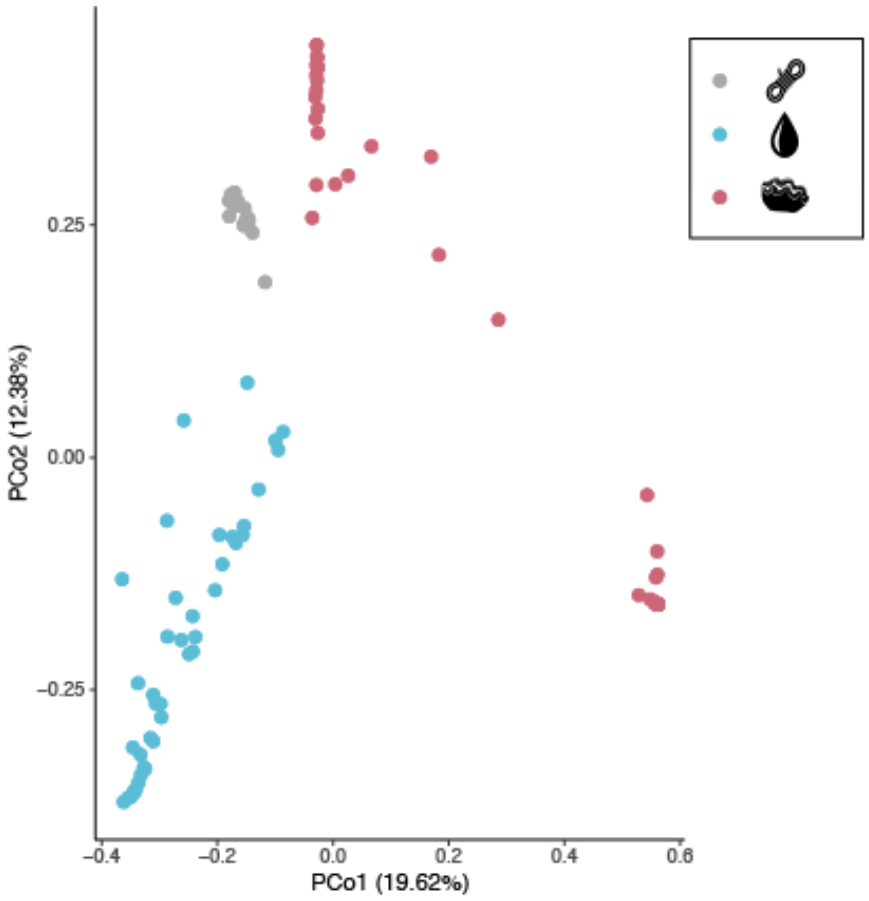


Figure 2. Variation in Bacterial Communities across plastic, water, and *Tridacna maxima* samples. Principal Coordinates Analysis (PCoA) on ASVs, each point represents a sample coloured according to the compartment where it was collected: in grey for plastic, in blue for water, in pink for *Tridacna maxima*.

3.2 Testing the influence of plastic concentration, on the variation of community assemblage

We tested the influence of plastic concentration on a broad scale using a distanced-based Redundancy Analysis (db-RDA) on the six significant PCoA axes (Figure S5). The analysis revealed that plastic concentration did not significantly influence the variation in community assemblage (P-value = 0.418). In contrast, and consistent with the PCoA results (i.e. plastics, water column and the giant clams; Figure 2), the majority of the variation was significantly influenced by the type of sample (adjusted R^2 = 51.8 %; P-value < 0.001). We also checked whether the type of plastic used in pearl farms (i.e. ropes and collectors) influenced community variation and found no significant difference in community assemblage between the two types of plastic (P-value = 0.3). To investigate the influence of the temporal scale on the bacterial community, we retained only the water samples, as they were collected at five different time points (i.e. T0, T1, T2, T3, T4). Sampling time significantly influenced bacterial community assemblages (P-value < 0.001), accounting for up to 19.4 % of the global variation. Each sampling time was significant, suggesting regular changes in the bacterial communities over time.

3.3 Continuity in a bacterial community structure across different type of eDNA samples

We identified 1 180, 1 251 and 820 ASVs specifically associated with plastics, water, and giant clams, respectively (Figure 3). We emphasized the specificity of the bacterial community associated with each compartment, as at least 30.2 % of the ASVs were unique to one of the compartments. The strongest continuity in community structure was found between water and plastic samples, with 514 shared ASVs, while the lowest continuity was found between *Tridacna maxima* and water samples, with only 80 shared ASV (Figure 3).

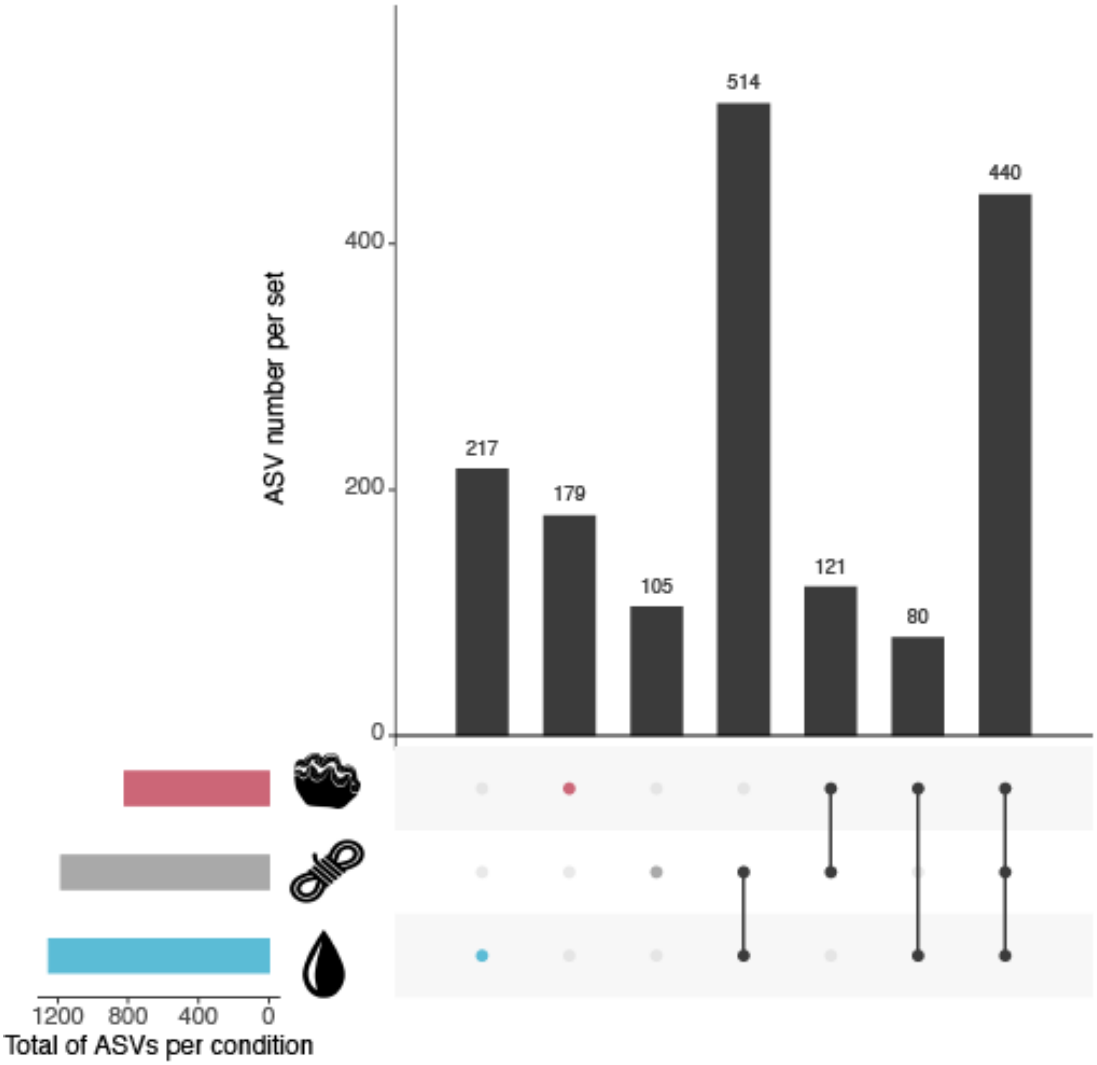


Figure 3. UpSet diagram showing the size of the intersection (i.e. number of ASV shared) across the types of samples (plastic, water, and *Tridacna maxima*). The size of each set is shown by the horizontal bars on the left.

3.4 Chemical analysis

Except for the mesocosm with the highest plastic concentration (4.05 g/L), chemical analyses revealed that the concentrations of the tested chemical components were below the limits of detection (LD) or quantification (LQ) (Table 2). In the mesocosm with 4.05 g of plastic, gas chromatography coupled with tandem mass spectrometry (GC/MSMS) indicated the presence of several pesticides such as Beta-BHC, Delta-BHC, acetochlor, metolachlor, and chlorpyrifos. The sum of pesticides reached 20.69 ng/L and 1.13 ng/L in the first and second

replicates, respectively. Nonylphenols, belonging to the alkylphenols class, were also detected in one of the two replicates at a level of 13.55 ng/L of water in the same mesocosm (Table 2).

3.5 Identifying candidate bacteria associated with plastic

For each type of sample (i.e. plastic, water, and *T. maxima*), the linear regression between the relative abundance of an ASV and plastic concentration detected a total of 33 candidates ASVs ($R^2 > 0.4$ or $R^2 < -0.4$ and P-value < 0.01). Candidate ASVs were also required to be present in at least three samples from the same environment. All the selected candidates had a positive R^2, revealing a consistently positive relationship between relative abundance and plastic concentration (Figure S6). Comparing the bacterial abundances in mesocosms with plastic concentrations ranging from 0 to 1.35 g/L, abundance tended to be similar; however, at 4.05 g/L, the abundance was higher, suggesting that the linear regression is largely driven by this unique extreme point in the distribution, regardless of the sample type (Figure S6).

3.6 Detecting a threshold for the impact of plastic

The mean abundances of all candidate bacteria obtained for plastic support, water and *T. maxima* samples at low plastic concentrations (ranges from 0 to 1.35 g/L) were 0.0007, 0.0018, 0.0001 while at high concentrations (4.05 g/L) these abundances were 0.0063, 0.0069, 0.0019 respectively. This represents 9, 3.8 and 19-fold shift in the abundance of candidate bacteria on plastic, water and *T. maxima*, respectively, with *T. maxima* showing the highest shift (Figure 4). These differences in bacterial candidate abundance between concentrations of 0 to 1.35 g/L and the highest concentration at 4.05 g/L of plastic were significant across all three sample types (Wilcoxon test; P-value < 0.01).

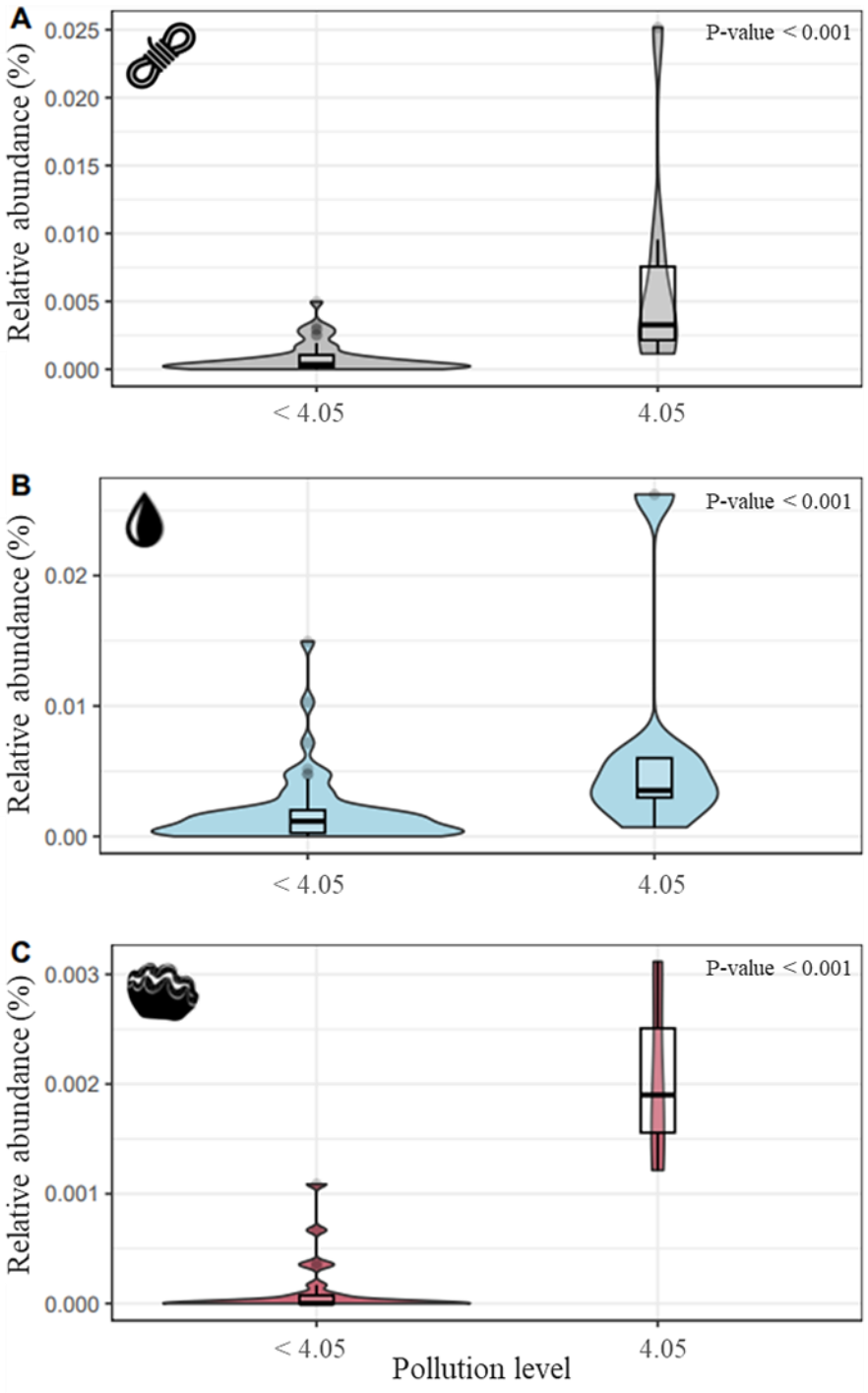


Figure 4. Average of relative percentages of abundance of candidates ASVs for concentrations below 4.05 g/L and for the maximum plastic concentration of 4.05 g/L for each type of sample. (A: plastic, B: water, C: *Tridacna maxima*).

3.7 Shared candidate among samples

Among these 33 candidates ASVs, some are specific to a particular type of sample. Specifically, four candidates ASVs are exclusively present in clams, nine are specific to the seawater compartment, and 18 are specific to the plastic. Notably, two candidates ASVs shared between water and plastic (Figure 5) corresponding to *Sulfurospirillum* (Class: *Campylobacteria*) and *Filomicrobium* (Class: *Alphaproteobacteria*) (Table 3).

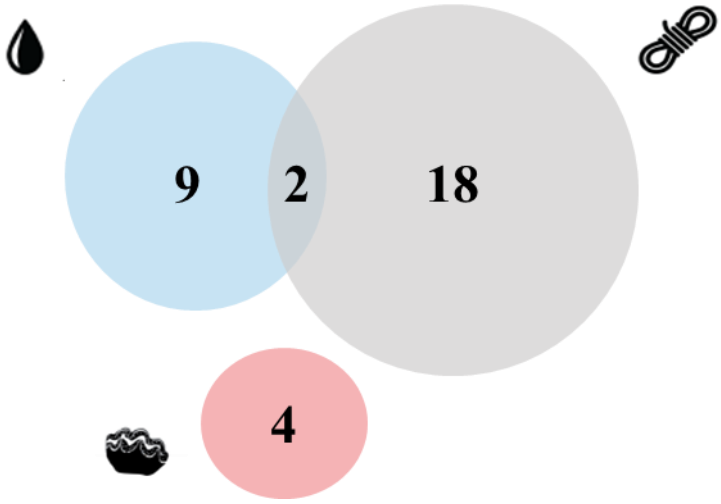


Figure 5. Venn diagram of candidate bacteria shared between plastic, water, and *Tridacna maxima* (grey: plastic, blue: water, pink: *Tridacna maxima*).

3.8 Candidate bacteria genetic similarity

Highlighting the genetic similarity across ASVs candidates reveals that the 33 identified bacterial genera are distributed into five classes, namely *Campylobacteria*, *Bacteroidia*, *Planctomycetes*, *Alphaproteobacteria*, and *Gammaproteobacteria* (Table 3 and Figure 6). The *Campylobacteria* class is represented by a single genus, *Sulfurospirillum*, while other classes, such as *Alphaproteobacteria*, are overrepresented, encompassing at least four candidate families of bacteria associated with plastic concentration.

However, the identification of candidate ASVs in one type of sample does not imply their absence in other environments. Table 3 shows that most of the candidate ASVs identified in one environment are also present in other environments without a significant impact on their abundance. In total, 11 ASVs (ASV635, ASV355, ASV905, ASV189, ASV1359, ASV513, ASV44, ASV703, ASV914, ASV730, ASV620) are shared among the three compartments (i.e.,

plastic support, water, and *T. maxima*). Additionally, 15 candidate ASVs from plastic substrate or water are shared between these two same environments, further emphasizing the bacterial continuity between them. Only five candidate ASVs are present exclusively in a single environment, namely ASV1045 (*T. maxima*), ASV492 (*T. maxima*), ASV1661 (water), ASV190 (water) and ASV1012 (plastic).

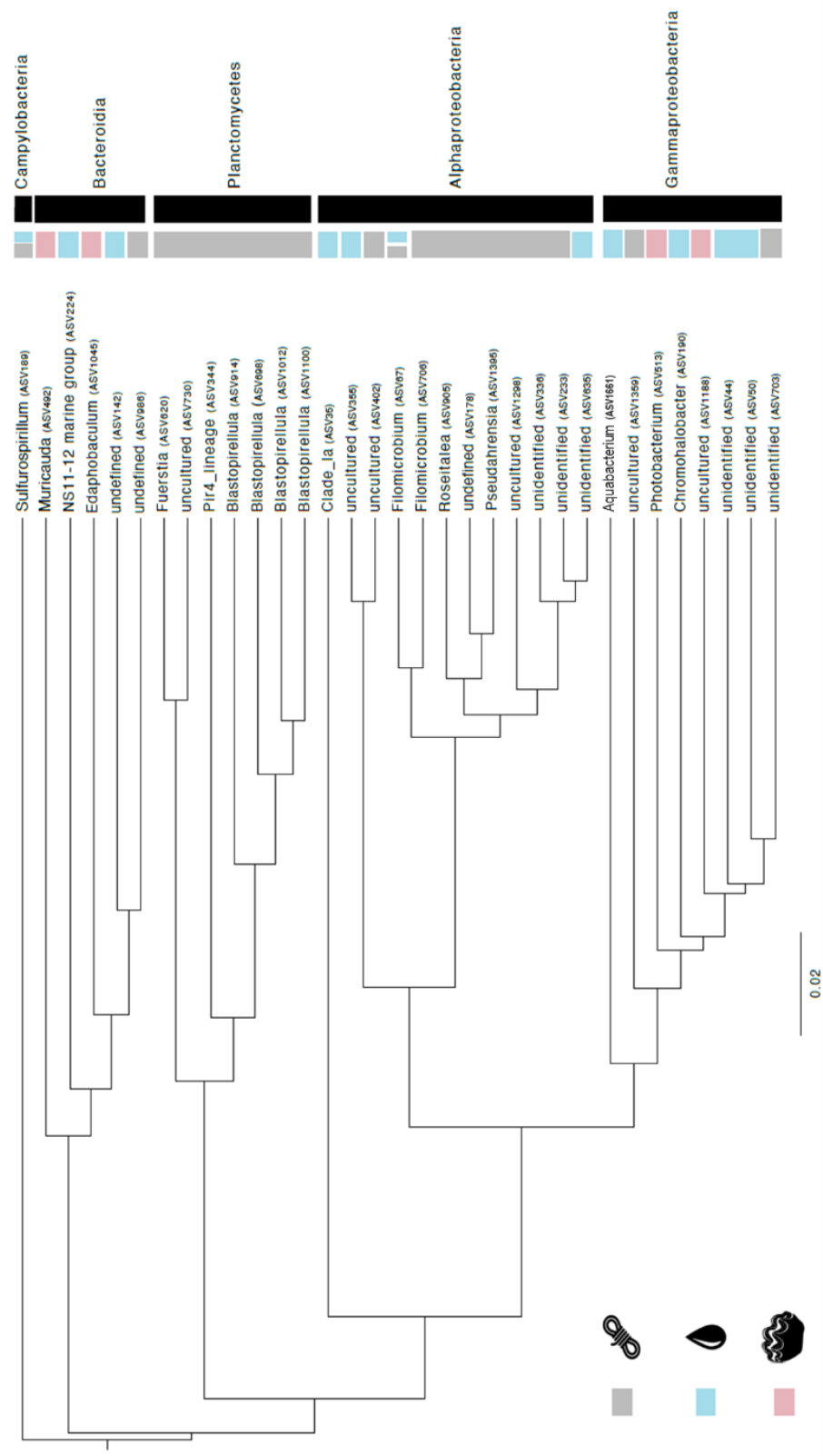


Figure 6. Left panel – Phylogenetic tree based on the V4 region of the bacterial 16S SSU rRNA gene for each ASV candidate; the ASVs are coloured accordingly to the type of sample where they were detected as candidates (grey: plastic, blue: water, pink: *Tridacna maxima*).

4. Discussion

A future projection estimates that by the year 2060, 155–265 million metric tons of plastic waste will be generated globally each year (Lebreton & Andrady, 2019). Poor management of these waste will increase the already heavy loads of plastics in the marine environment, highlighting the urgent need to anticipate the potential consequences of plastic on marine ecosystems. In addition to the physical pollution caused by such a large input of plastic into the marine compartment, the chemical pollution produced by the release of POPs and additives during the leaching of submerged plastics is equally concerning and needs to be better documented. Our study aligns with these future concerns and seeks to delineate the impact of this chemical pollution on the marine bacterial compartment. This was made possible by designing 'simplified' marine ecosystems in mesocosms, typical of French Polynesia where aquaculture is a major source of marine plastic pollution (Andréfouët et al., 2014; Crusot et al., 2023). We quantified which bacteria are affected by plastic pollution, considering the marine ecosystem as a whole, from the animal to the water column via the plastic substrate. From a practical point of view, we provide a list of bacteria impacted by plastic pollution and to be potentially monitored in order to consider the possible repercussions of bacterial imbalance caused by high concentrations of plastics in the environment.

Studying changes in bacterial composition under environmental stressors can help us understand the health status of an ecosystem given their bacteria's short generation time and crucial influence on animal health, such as their role in microbiomes that play essential functions within marine organisms (Sehnal et al., 2021). In agreement with the literature (De Tender et al., 2015; Dang & Lovell, 2016), we showed that bacterial composition varies significantly between plastic-binding bacteria (plastic support), planktonic bacteria (water), and the microbiome of a host animal (the giant clam). This variation is not surprising, as these compartments represent different habitats. These findings echo the work of Kesy et al., (2019) who also demonstrated heterogeneity in biofilm assemblages on PE and PS (Polystyrene) microplastics, wood, seston and bacteria living in open water. The heterogeneity observed between plastic-binding/planktonic and microbiome bacteria can be explained by the capacity of living animals to control their colonizers. Giant clams, as living organisms, can actively select the bacteria that colonize them – through mechanisms such as their immune system - unlike plastic and water, which are inert environments where bacterial colonization is largely

passive (R. J. Wright et al., 2020). Indeed, microbiota have evolved over time in interaction with their host animals, forming mutualistic relationships (Apprill, 2017). Furthermore, the low bacterial diversity (with an overrepresentation of *Endozoicomonadaceae*) observed in the giant clam microbiome demonstrates the animal's ability to selectively permit or reject bacteria. The high abundance of *Endozoicomonadaceae* found in some *T. maxima* individuals aligns with the study of Rossbach et al., (2019) which reported the apparent dominance of this family in the gills of *T. maxima*. These selection mechanisms is driven by innate immunity (Allam & Espinosa, 2015), but the balance between the giant clam and its microbiota can be influenced by external abiotic stressors such as temperature increases and pollution (Guibert et al., 2020; Yaqin et al., 2020).

The composition of bacterial biofilms changes over time, following well-defined colonization stages. In 2017, a study compared the development of biofilms on marine waste immersed in a port versus at sea. For the same type of plastic polymer, the amount of biofilm that accumulated after 22 weeks of exposure at sea was similar to the amount that had already accumulated in the port after one week of exposure (De Tender et al., 2017). The combined effects of increased temperature and acidification of the environment can lead to rapid changes in bacterial communities within 24 hours (Tsiola et al., 2023). Furthermore, the initial colonizers of biofilms, which are in direct contact with the surface, are therefore more likely to be influenced by the physicochemical properties of the substrate than bacteria integrated into a fully developed biofilm (Pinto et al., 2019). Additives released, such as pesticides, phthalates, alkylphenols and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), released in large quantities when new pearl plastics are immersed in water (Gardon et al., 2020a), play a significant role in bacterial selection. Only bacteria capable of absorbing these leached additives were able to develop first (Pinto et al., 2019). The main bacterial classes found in our samples after two months of exposure to plastics are *Gammaproteobacteria* and *Alphaproteobacteria*. The dominance of these bacteria in terms of abundance may suggest that bacteria belonging to these two classes are more resistant to plastic leaching products than others.

Marine ecosystems are increasingly confronted with the challenge of plastic pollution, one consequence of which is the emergence of dysbiosis, disrupting the biological balance of marine habitats. However, in our study, we found no dysbiosis induced by the concentration of plastic, whereas a significant influence of time and habitat was observed. A previous study using the same exposure duration as our experiment demonstrated dysbiosis due to the presence

of plastic in the environment (Ye et al., 2021). They showed that 26 bacterial species from the *Proteobacteria* and *Bacteroidetes* phyla were significantly affected by the addition of polystyrene microbeads to water, with this disturbance persisting for 60 days (Ye et al., 2021). This finding suggests several possibilities: the type of plastic polymer used, such as PP and PE versus PS, may have different toxic effect on bacteria and/or microplastics might have a greater impact on bacterial communities than macroplastics. Microplastics have a greater specific surface area per unit mass than macroplastics due to their smaller size, providing more surface area for interactions with living organisms in their environment. Consequently, microplastics may facilitate these interactions and induce more pronounced biological effects. Furthermore, the ability of microplastics to adsorb toxic substances and organic compounds (Fu et al., 2021) could amplify their impact on living organisms, including bacteria, by releasing contaminants into the surrounding environment. In our study, we did not observe significant changes in bacterial community composition in the presence of macroplastics. However, it would be interesting to find out whether this lack of impact persists when exposed to plastic microparticles, which will underline the importance of considering particle size in assessing the impacts of plastic pollution on aquatic ecosystems.

Exploring the microbial communities' response to pollution along the marine continuum is crucial for defining which habitats are most affected by pollution, how one habitat may influence another and thus tracking plastic pollution holistically (Somee et al., 2021). In our study, we highlighted a strong exchange of bacteria between habitats, as nearly 70% of the microbial community was shared by at least two habitat types. Consequently, bacteria whose abundance is boosted by increasing plastic concentration in one compartment could follow this continuum and become more abundant in another connected habitat, potentially leading to its colonization. As expected, the plastic and water compartments shared the largest bacterial community, as both planktonic and plastic-binding bacteria have the ability to associate and form biofilms (Dang & Lovell, 2016). Floating marine plastics create a new colonizable niche in the water column, which is conducive to the establishment of certain microbial primary producers (R. J. Wright et al., 2020). Since water transports both bacteria and the chemical compounds released by plastics, plastic pollution in this habitat can have far-reaching effects on the bacterial community within the mesocosm scale, potentially inducing changes in bacterial abundance. These impacts can extend beyond habitats directly in contact with plastics.

To date, our study is the first to demonstrate that while plastic pollution may not initially appear to impact the bacterial community on a large scale, its effects are subtler and manifest in specific bacterial genera across different compartments - from plastic substrates to the water column and marine animals. Plastic pollution can influence particular bacteria, including photosynthetic (Tetu et al., 2019) and pathogenic species (Vlaanderen et al., 2023), indicating that its impact extends beyond mere colonization surfaces. Chemical analyses conducted on all the mesocosms after two months of plastic immersion identified pesticides and alkylphenols exclusively in the mesocosm with the highest plastic concentration (4.05 g/l, Table 2). Concurrently, we observed shifts in the abundance of certain bacteria, specifically between mesocosms with plastic concentrations below 4.05 g/l and above 4.05 g/l. Remarkably, 20 of the 33 candidates ASVs are associated with the 'plastic' compartment. The increased abundance of these ASVs is likely due to the greater surface area available for bacterial colonization. This suggest that plastic additives may play a role in shaping microbial communities within plastispheres (Pinto et al., 2019).

Extensive analyses have previously investigated leachates from plastics used in pearl farming; revealing the release of various additives and persistent organic pollutants, such as pesticides, phthalates, hydrocarbons, and alkylphenols, upon immersion (Gardon et al., 2020a). Our study is the first to directly link plastic concentration in the marine environment with changes in the abundance of specific marine bacteria, some of which may serve as bio-indicators. We found that certain bacterial families show a significant increase in abundance in response to high plastic concentrations in specific ecosystem compartments, though these families are not universally impacted across all environments. This underscores the specific impact of plastic pollution on bacterial genera associated with particular habitats. In this sense, we identified five candidate bacteria belonging to the *Rhodobacteraceae* family, which includes species linked to diseases. For instance, *Rhodobacteraceae* has been implicated in bleaching events involving the red alga *Delisea pulchra* (Fernandes et al., 2012), diseases in juvenile oysters (Boettcher et al., 2005) and corals diseases affecting *Diploria strigosa*, *Montastrea annularis* and *Colpophyllia natans* (Cooney et al., 2002; Pantos et al., 2003). Additionally, we identified two candidate bacteria belonging to the *Flavobacteriaceae* family. This family includes infectious agents responsible for the "Suminori" disease in the red alga *Porphyra* sp. (Kusuda et al., 1992) and for the tenacibaculosis, which affects a wide range of commercially valuable fish species (Lopez et al., 2022; Nowlan et al., 2020). Furthermore, we found one

candidate bacteria belonging to *Vibrionaceae*, specifically in the *Photobacterium* genus, which includes highly pathogenic bacterial isolates affecting various marine organisms and humans (Rivas et al., 2013). The potential enrichment of these pathogenic families in environments heavily impacted by plastic pollution could have serious consequences, possibly leading to harmful synergistic effects.

Given the plastic pollution crisis, various strategies are being explored to reduce plastic waste. Among these, polymer degradation by bacteria emerges as a promising solution. Certain bacteria can use plastics as a carbon source, transforming these synthetic materials into biodegradable matter (R. J. Wright et al., 2020). In our study, we identified *Photobacterium* and *Aquabacterium* as candidate bacteria for this purpose. These genera have been previously identified for their plastic-degrading capacities, supporting the development of controlled biodegradation methods. For instance, *Photobacterium* has been shown to degrade PET bottles effectively; a recent study reported a 35 % degradation of PET bottles after six weeks of exposure to this bacterium (Sarkhel et al., 2020). Similarly, *Aquabacterium* is known for metabolizing recalcitrant substances, including plastics such as PVC and PHB polymers (Kalmbach et al., 2000; Martínez-Campos et al., 2021).

One of the fundamental principles of genetics is that a monophyletic group of organisms share one or more unique derived characters (Ashlock, 1971). These shared genetic traits often indicate similar functional roles across different species. In our study, the phylogenetic tree revealed that *Photobacterium* and *Aquabacterium* belong to the same monophyletic group within the class *Gammaproteobacteria* and are capable of degrading plastic polymers. A review by Gambarini et al., (2021) highlighted *Gammaproteobacteria* are notably represented among bacterial classes with plastic-degrading capacities, comprising 17.7 % of described plastic-degrading bacteria and capable of degrading over 43 plastic polymers. This suggest that the ability to degrade plastic polymers might be a trait shared by genera within this monophyletic group. Interestingly, no studies have yet reported plastic degradation by *Chromohalobacters*. Therefore, it would be valuable for future research to investigate the potential plastic-degrading abilities of *Chromohalobacters* and other genera within this monophyletic group that have not yet been described (i.e., ASV 1359, ASV 1188, ASV44, ASV50, and ASV703).

5. Conclusion

Our study contributes of the growing body of research on the impact of plastic pollution on marine ecosystems. By analyzing bacterial communities in mesocosms that mimic simplified tropical marine ecosystems, we sought to understand the effects of chemical pollution from leaching pearl plastics on marine bacteria. We did not observe widespread dysbiosis associated with gradual plastic pollution, our findings identified specific bacterial genera that are affected by plastic pollution. The phylogenetic analysis of these bacteria indicates that some of them are known pathogens or have plastic-degrading capacities. Additionally, several bacteria within the same monophyletic group have not yet been extensively studied. It remains possible that these bacteria could also be pathogenic or capable of utilizing plastic polymers as a carbon source. To advance our understanding, future research should focus on:

(1) Exploring the potential pathogenicity: Conduct targeted studies to determine if the bacterial genera identified in our study that are affiliated with known pathogens also exhibit pathogenic traits. This could involve assessing their virulence factors and interactions with marine organisms to understand potential risks.

(2) Investigating plastic degradation abilities: Examine the plastic-degrading capabilities of the identified bacteria, particularly those within the same monophyletic group as *Photobacterium* and *Aquabacterium*. This includes testing their ability to degrade various plastic polymers and assessing their efficiency in transforming plastics into biodegradable byproducts.

(3) Conducting field validation: Validate the mesocosm findings through field studies in natural marine environments to confirm if the observed patterns and impacts of plastic pollution hold true in more complex and variable real-world conditions.

Supplementary Figures and Tables

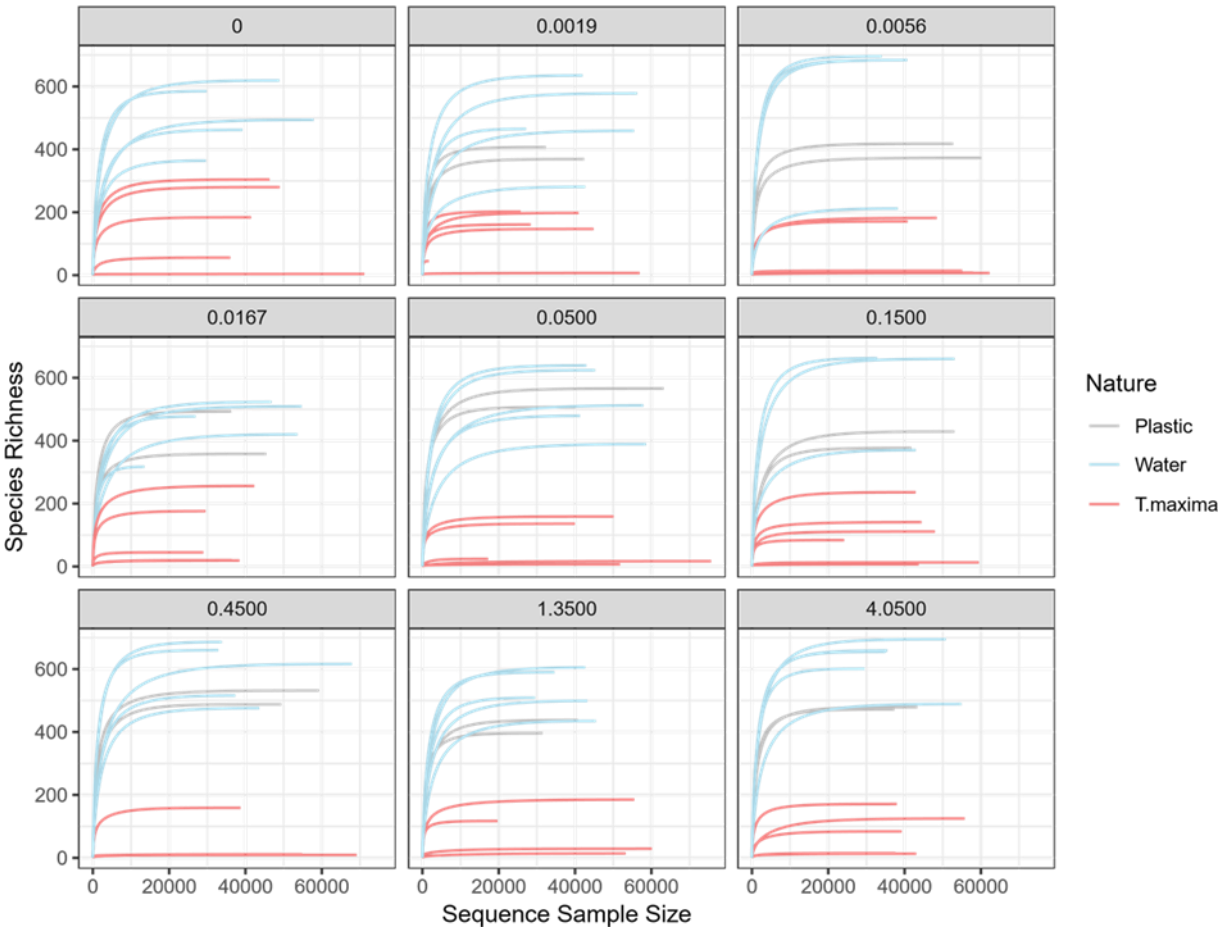


Figure S1. Rarefaction curves as a function of the concentration of plastic (grey: plastic, blue: water, pink: *Tridacna maxima*).

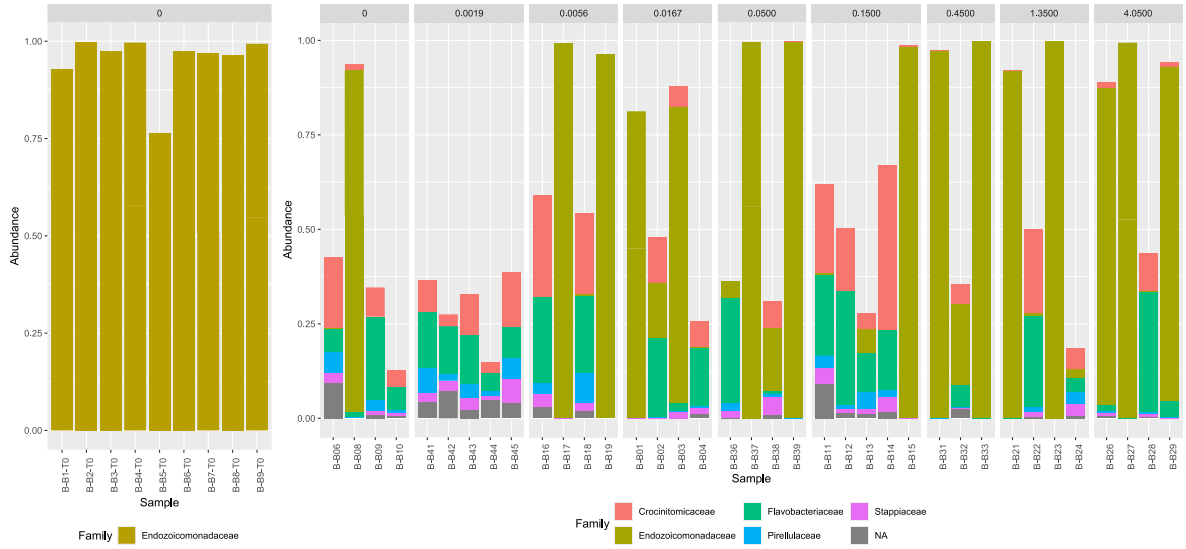


Figure S2. Compositional plot of the composition of *T. maxima* bacterial communities at family level. On the left, the composition of the bacterial communities of *T. maxima* sampled at t0 before immersion in plastics. On the right, the composition of the bacterial communities of *T. maxima* sampled after two months of exposure to different concentrations of pearl plastics.

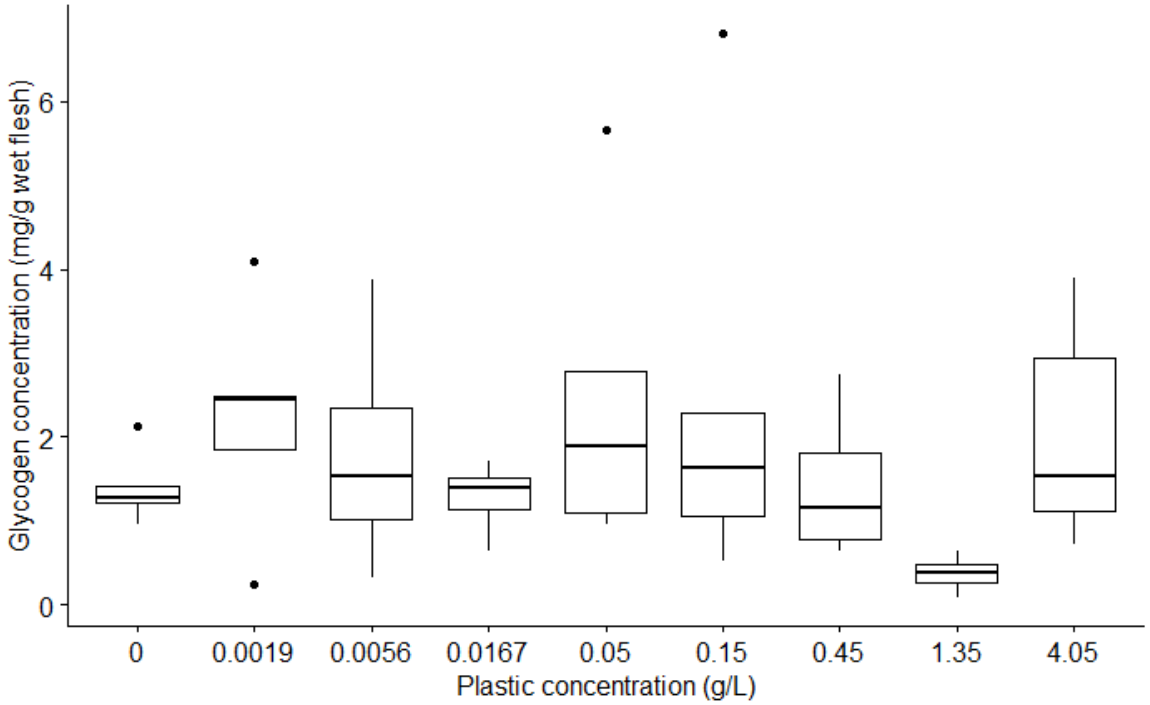


Figure S3. Muscle glycogen concentration per gram of wet weight of *T. maxima* as a function of pearl plastic concentration.

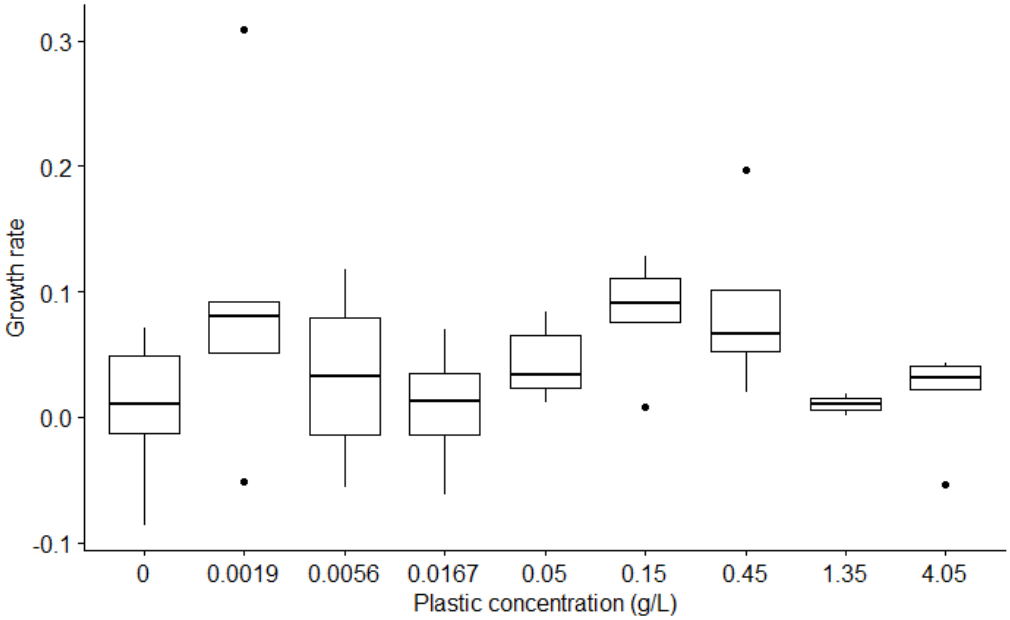


Figure S4. Shell growth rate of the *T. maxima* as a function of pearl plastic concentration.

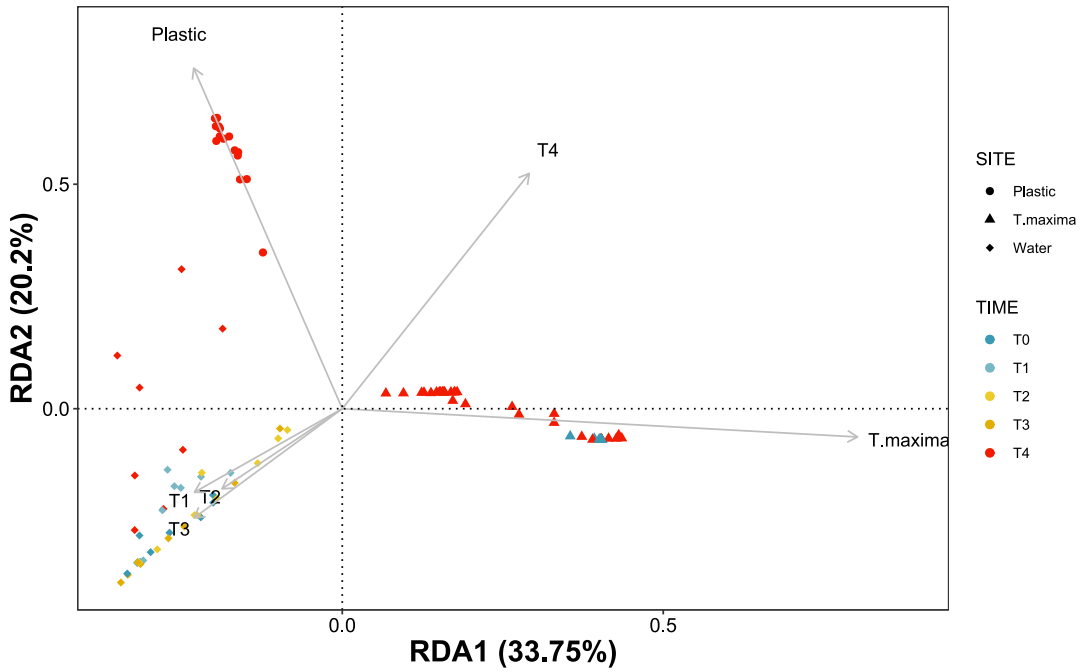


Figure S5. Distanced-based redundancy analysis on 104 samples that includes16, 42 and 46 samples of plastic, water and *T. maxima* respectively.

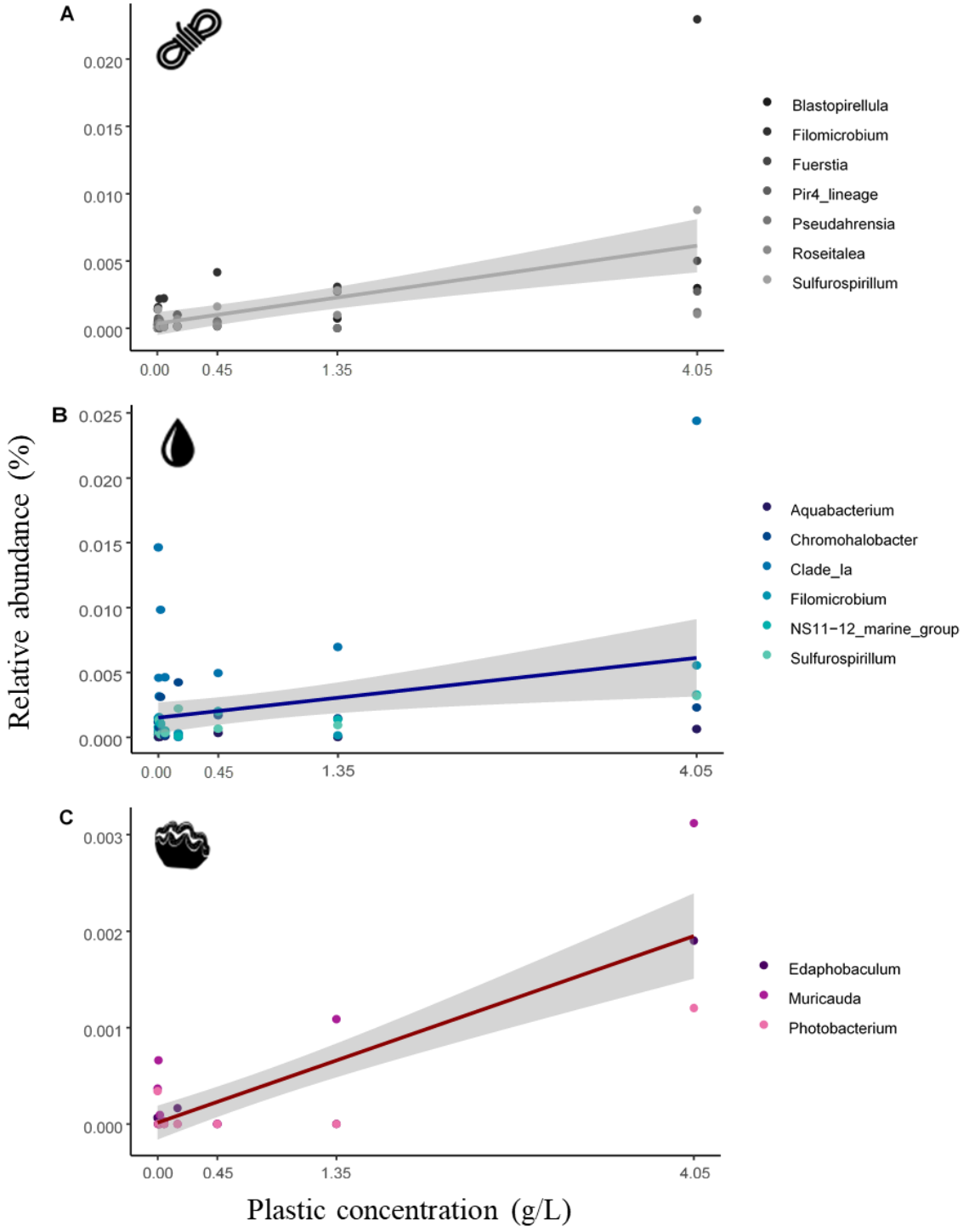


Figure S6. Percentage relative abundances of candidate ASVs as a function of plastic concentration (g/L) for each type of sample. Only ASVs identified up to genus have been represented (A: plastic, B: water, C: *Tridacna maxima*).

3.3 DISCUSSION : LES LIMITES DES MESOCOSMES ET LES PROBLEMES RENCONTRES

Au cours de cette expérience, nous avons constaté que les mésocosmes sont des outils précieux pour reproduire de manière réaliste les effets induits par la présence de plastiques sur les communautés bactériennes. Cependant, nous avons également été confrontés à certaines limites. Initialement, notre objectif était de suivre l'impact potentiel des plastiques sur des indices de condition prédéfinis pour les organismes présents dans les bacs, mais plusieurs défis se sont posés.

3.3.1 Les coraux, *Pocillopora damicornis*

Pour les coraux nous avons suivi leur état de santé par évaluation colorimétrique visuelle de leurs tissus. Cette technique non invasive permet de suivre les changements de couleurs des tissus grâce à une carte de référence de couleurs pour évaluer le degré de blanchissement des coraux (Figure 18) (Siebeck et al., 2006).

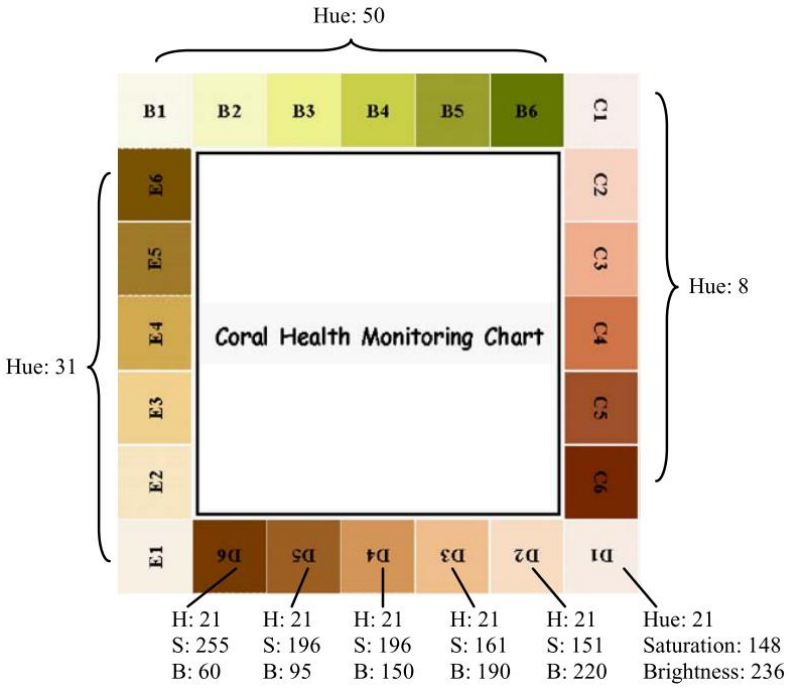


Figure 18. La carte de référence des couleurs du corail. *Cette carte a été conçue pour normaliser les changements de couleur du corail. Les teintes sont données pour les quatre catégories de couleurs*

différentes disposées en groupes sur les côtés de la carte. Les valeurs de de luminosité et de saturation sont données pour une seule teinte car elles sont identiques pour la même note numérique de couleur pour chacune des autres teintes. Figure tirée de Siebeck et al., 2006.

En effet, le blanchissement des tissus coraliens intervient généralement à la suite de stress thermiques, de maladies ou de toutes autres perturbations environnementales ressenties par ces animaux (Brown, 1997). Plus récemment, il a été démontré que les nanoplastiques pouvaient provoquer un stress oxydatif chez les coraux et ainsi être à l'origine de blanchissements des tissus coraliens (Marangoni et al., 2021). Journalièrement, les tissus de chacune des colonies de nos bacs étaient suivis et le pourcentage de tissus présentant une anomalie de couleur par rapport à leur condition initiale était répertoriée. Lorsque la colonie présentait moins de 5 % de tissus sains elle était considérée comme morte. Avec ces données nous avons ensuite pu réaliser des courbes d'estimation de la survie des coraux par bacs selon le modèle de Kaplan-Meier (Figure 19).

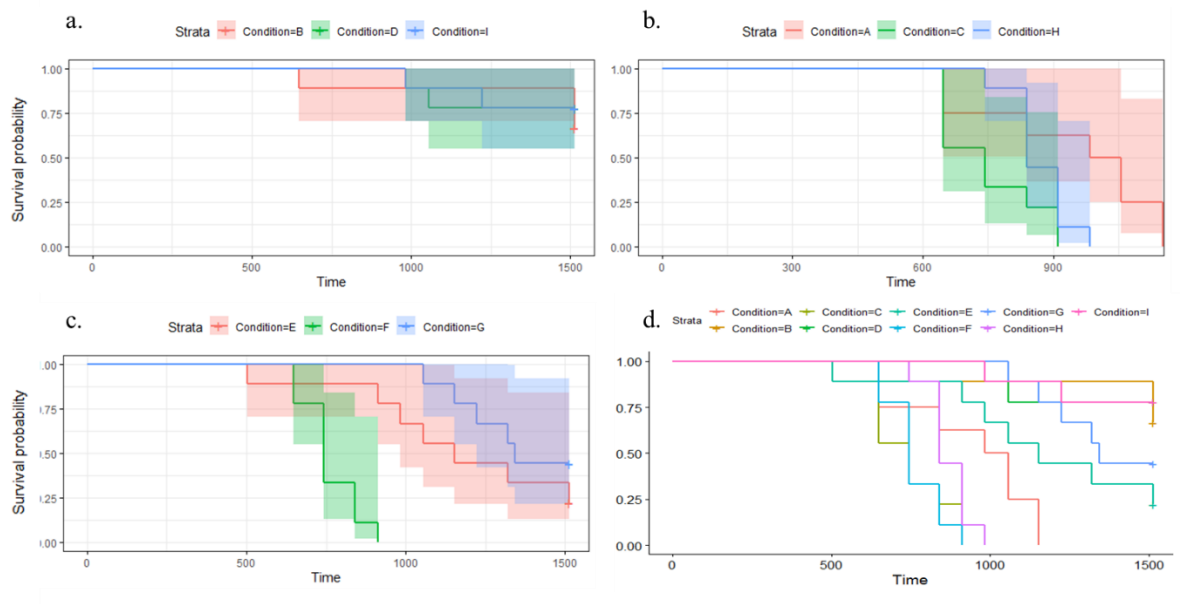


Figure 19. Représentation des courbes de probabilité de survie des boutures coralliennes en fonction des concentrations de plastiques perlicoles et du temps*. a) les courbes de survie des coraux des trois mésocosmes avec les plus faibles concentrations de plastiques, b) les trois concentrations de plastiques intermédiaires et c) les trois concentrations de plastiques les plus élevées. d) Une représentation des courbes de probabilité de survies des coraux de l'ensemble des neuf mésocosmes. Le temps sur l'axe des abscisses est exprimé en heures.*

Grâce à la Figure 19.a. nous pouvons voir qu'à la fin de l'expérimentation plus de 60 % des boutures coralliennes des trois bacs contenant les concentrations de plastiques les plus faibles étaient encore en vie. Pour les concentrations intermédiaires Figure 19.b. l'ensemble des colonies étaient mortes à 1 200 heures. Enfin, pour les courbes de survie des coraux dans les mésoscosmes contenant les concentrations les plus élevées en plastiques, la Figure 19.c. nous montre que certaines boutures des mésocosmes E et G présentaient encore du tissu vivant à la fin de l'expérience alors que l'ensemble des coraux étaient morts avant 1 000 heures pour les coraux provenant du mésocosmes F le plus concentré en plastiques.

Aussi une détérioration des tissus a été observée pour l'ensemble des boutures coralliennes mais en proportions différentes selon les mésocosmes. Cependant, compte tenu de la grande variabilité de réponse entre les bacs et de l'absence de réplica par concentration de plastiques, aucun lien significatif n'a pu être établi entre la présence de plastiques dans le milieu et le blanchissement des tissus de *Pocillopora damicornis*.

3.3.1 Les huîtres *P. margaritifera* et les bénitiers *T. maxima*

Comme indices de condition des huîtres et des bénitiers nous avons choisi de suivre l'évolution de leur croissance et de leurs réserves en glycogènes musculaires entre t_0 et après deux mois d'immersion dans des milieux contaminés par les plastiques perlicoles. Pour cela nous avons réalisé une biométrie complète (hauteur, largeur, épaisseur et poids) de l'ensemble de ces individus identifiés individuellement et sacrifié également cinq individus de chaque espèce afin de procéder à la quantification du glycogène au temps initial. Ces individus ont ensuite été répartis aléatoirement entre les bacs.

Au cours de l'expérimentation, l'état de santé des animaux était régulièrement surveillé. Quelques mortalités d'huîtres et de bénitiers ont été observées et sont résumées dans le Tableau 5. Lorsque des animaux étaient retrouvés morts, ils étaient immédiatement retirés des bacs.

Table 5. Mortalités des bénitiers et des huîtres perlières recensées dans les différents mésocosmes.

Mésocosmes	Concentration plastique (g/L)	Bénitiers morts	Huitres mortes
B	0	0	0
I	0.0019	0	1
D	0.0056	1	0
A	0.0167	1	0
H	0.0500	0	0
C	0.1500	0	1
G	0.4500	1	2
E	1.3500	1	0
F	4.0500	0	1

Sur les 45 bénitiers de départ quatre sont morts (8.9 % de mortalité) et sur les 45 huîtres immergées à t_0, cinq sont mortes (11.1 % de mortalité) durant les deux mois de l'expérimentation. Nous n'avons pas pu établir de lien significatif entre la concentration de plastique et la mortalité de ces animaux.

A la fin des deux mois de d'expérimentation, l'ensemble des *P. margaritifera* et des *T. maxima*, ont été de nouveau mesurés puis sacrifiés afin de prélever un morceau de muscle pour le dosage du glycogène. Les comparaisons des taux de croissance et des concentrations de glycogène sont présentés en Figure 20. Des analyses statistiques ont également été réalisées, mais aucune différence significative n'a été trouvé entre ces groupes peu importe l'indice de condition ou l'espèce étudiée.

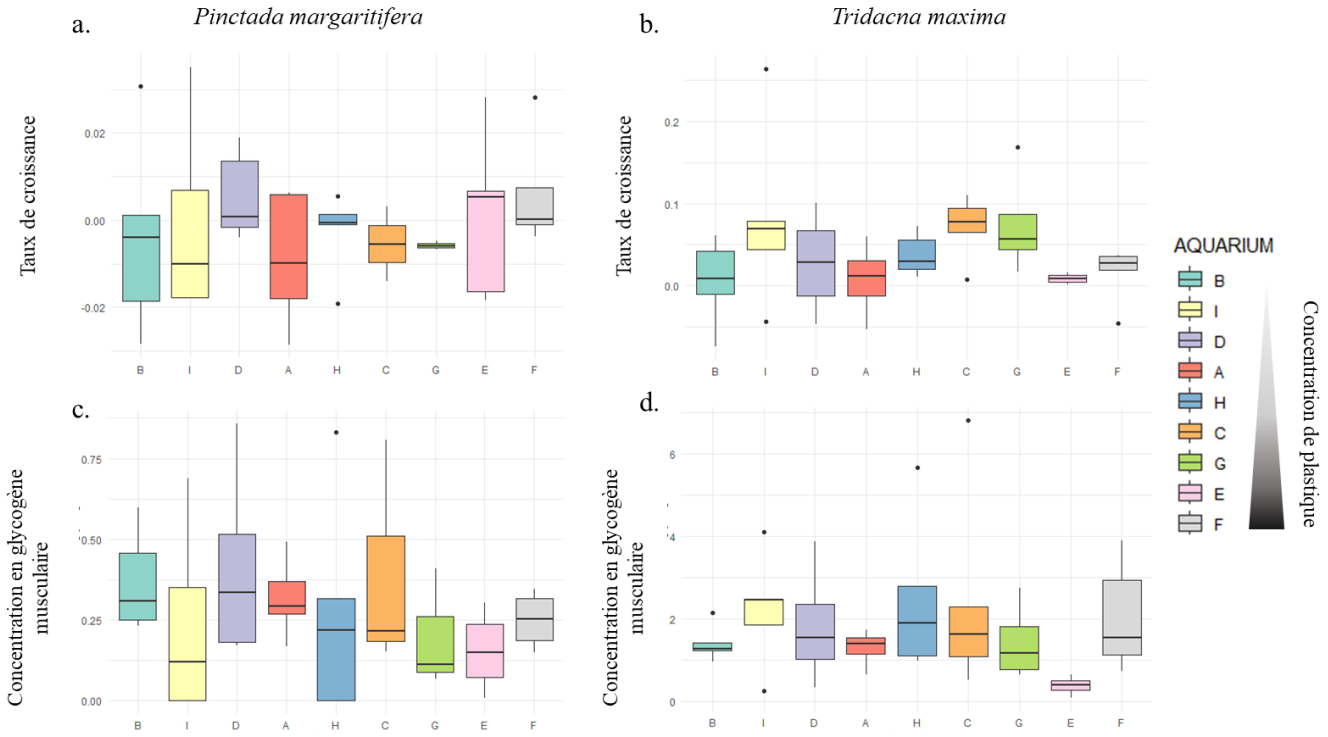


Figure 20. Comparaison des taux de croissance et des concentrations en glycogène musculaires de P. margaritifera et T. maxima. *Ces indices de condition ont été mesurés chez les animaux après deux mois dans des mésocosmes contenant différentes concentrations de plastiques perlicoles.*

3.3.2 Séquençage bactérien

Afin de comparer l'évolution de communautés bactériennes en fonction de la concentration de plastique du milieu et ce dans divers compartiments, un plan d'échantillonnage le plus exhaustif possible a été imaginé. En effet, après deux mois d'immersion des plastiques dans nos aquariums, nous avons réalisé des prélèvements de la colonne d'eau, des frottis sur les plastiques, ainsi que des prélèvements sur les bénitiers et les huîtres. Des frottis de la cavité palléale ainsi que des prélèvements sur les branchies des deux espèces de bivalves ont été réalisées.

Après extraction de l'ADN de l'ensemble de ces échantillons, une amplification de la région V4 du gène 16S rRNA a été réalisée. Ces produits de PCR ont ensuite été séquencés par séquençage haut débit Illumina MiSeq à la plateforme de Genome Quebec à Montréal. Cependant, parmi les échantillons séquencés certains ont généré un nombre de reads très faible

(>10 000). Le succès de séquençage était largement dépendant du type d'échantillon. A titre d'exemple, seuls quatre échantillons sur les 96 (48 frottis de cavités palléales et 48 branchies) d'huîtres ont pu être correctement amplifiés. Nous attribuons ce problème d'amplification à la présence d'inhibiteur dans les échantillons d'huîtres. Compte tenu de ces résultats, les échantillons d'huîtres ont été écartés de l'étude. De manière similaire, seuls 26 % des frottis de la cavité palléale des bénitiers ont généré plus de 10 000 reads. Afin d'avoir une analyse homogène des bénitiers nous avons préféré conserver uniquement les séquençages des branchies de bénitiers dont 41/50 ont présentés une amplification satisfaisante.

Les problèmes rencontrés lors de la phase d'amplification, nous ont donc amenés à adapter notre analyse et ont contraint notre étude à se focaliser uniquement sur les échantillons qui avaient une qualité de séquençage suffisante. Par conséquent, les résultats obtenus sont représentatifs des échantillons de branchies de bénitiers uniquement. En outre, afin d'améliorer la qualité des séquences futures et de minimiser la présence d'inhibiteurs, nous recommandons de procéder à une étape de purification supplémentaire des échantillons avant l'amplification. Cette étape pourrait inclure des techniques telles que l'utilisation de colonnes de purification, des précipitations supplémentaires ou d'autres méthodes de purification des acides nucléiques afin d'éliminer les inhibiteurs potentiels. Enfin, pour les futures études, il serait bénéfique d'explorer différentes approches d'extraction d'ADN qui sont spécifiquement adaptées à des types d'échantillons difficiles, comme ceux provenant des huîtres et des bénitiers, pour augmenter le taux de réussite de l'amplification et du séquençage.

3.4 CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les expériences en mésocosmes réalisées pour étudier la plastisphère colonisant les plastiques perlicoles ont permis de mettre en lumière plusieurs aspects critiques concernant la pollution plastique dans les écosystèmes marins. Les résultats obtenus, bien que limités par certains obstacles techniques et méthodologiques, fournissent des indications précieuses sur l'impact des plastiques sur les communautés bactériennes et sur la santé des organismes marins.

Tout d'abord, il est essentiel de souligner que la mise en place des mésocosmes s'est révélée longue et complexe. Chaque mésocosme, fonctionnant comme une entité distincte, a rendu

difficile la reproductibilité stricte des conditions expérimentales. Par conséquent, nous avons opté pour une approche où chaque bac était considéré comme une unité indépendante, analysant les changements de communautés bactériennes entre t_0 et t_2 mois.

Malgré ces défis, nos observations ont démontré que la présence de plastiques dans l'environnement marin favorise la surabondance de certaines espèces bactériennes, potentiellement pathogènes. Cette découverte souligne l'importance des enjeux biologiques liés à la pollution plastique et suggère que les plastiques perlicoles peuvent contribuer à des déséquilibres écologiques significatifs.

En parallèle, ces résultats peuvent également être envisagés sous un spectre plus positif. En utilisant les communautés bactériennes associées aux plastiques comme indicateurs de pollution, il serait possible de développer un réseau de surveillance pour évaluer la santé des lagons et alerter les décideurs publics en cas de dépassement de seuils critiques environnementaux. Cette approche nécessite des études *in situ* plus approfondies pour valider son efficacité et sa fiabilité comme outil de gestion environnementale.

Pour améliorer les futures expériences, il serait bénéfique d'optimiser les techniques d'extraction et de purification de l'ADN, particulièrement pour des échantillons difficiles comme ceux provenant des huîtres et des bénitiers. Des méthodes avancées de purification et d'amplification pourraient réduire les problèmes rencontrés et augmenter la qualité des séquençages obtenus.

En conclusion, bien que notre étude ait révélé des limites méthodologiques, elle ouvre des perspectives importantes pour comprendre et gérer l'impact de la pollution plastique dans les écosystèmes marins.

4 MISSION HUITRES SENTINELLES, UNE APPROCHE DE LA CONTAMINATION EN MICROPLASTIQUES *IN SITU*

4.1 PREAMBULE

Le tourisme et l'industrie perlière figurent parmi les pressions anthropiques les plus importantes en Polynésie française. En 2023, ces secteurs occupent respectivement la première place avec plus de 790 millions USD (85 milliards F.CPF) (L'Echo touristique) et la deuxième place avec 145 millions USD (16 milliards F.CPF) de revenus générés par le pays (Perle de Tahiti, Polynésie 1ère, 2024). Or, le tourisme et l'industrie perlière sont identifiés comme des sources importantes de pollution plastique des lagons et des plages en Polynésie (Andréfouët et al., 2014; Verlis & Wilson, 2020). Une fois en mer, les plastiques vont commencer à se dégrader en particules plus petites classées en micro (< 5 mm) ou nanoplastiques (< 1 µm) en fonction de leur taille (GESAMP, 2019). Des études antérieures ont révélé l'omniprésence de microplastiques dans les eaux de surface, dans la colonne d'eau des lagons mais également dans les tissus des huîtres *P. margaritifera* des atolls perlicoles (Andréfouët et al., 2014; Gardon et al., 2021). L'impact de telles quantités de macro et microplastiques sur les écosystèmes tropicaux reste globalement méconnu. Cependant, des études en laboratoire se sont intéressées aux effets des microparticules de plastique sur la physiologie des huîtres perlières *P. margaritifera*. C'est ainsi qu'il a pu être mis en évidence que les MPs provoquaient des perturbations au niveau de la reproduction, de la croissance, de l'état des réserves énergétiques

ou encore entraînaient une modification du niveau d'expression de certains gènes relatifs à l'immunité et à la bio-minéralisation chez les huîtres perlières (Gardon et al., 2018, 2024; Gardon, Morvan, et al., 2020). La sensibilité des huîtres perlières aux MPs a conduit à la mise en place d'une surveillance de leur état de santé dans différents environnements affectés par des activités humaines génératrices de pollution. En août 2021, 1 200 huîtres ont ainsi été récupérées à Takapoto, puis transférées dans quatre atolls pour suivre l'impact du milieu sur leur état de santé. Ce projet, nommé « Huîtres Sentinelles », a mobilisé des agents de l'Ifremer et de la DRM, et n'aurait pu voir le jour sans l'engagement des perliculteurs, pêcheurs et communautés locales, qui ont grandement contribué au succès des missions.

Il n'existe à l'heure actuelle, aucun seuil défini pour évaluer la qualité environnementale des milieux marins face à la pollution en MPs. En l'absence de normes mondiales, il revient donc à l'initiative des institutions scientifiques, politiques et publiques locales de tenter d'évaluer la qualité de leurs eaux en termes de pollution plastique. Le développement d'outils biologiques adaptés au climat tropical, comme l'identification d'espèces bioindicatrices de la pollution plastique, apparaît ainsi comme une solution à envisager pour alerter en cas de dépassement des seuils critiques de pollution plastique pouvant nuire à la santé des écosystèmes et, par conséquent, aux secteurs dépendants de l'environnement marin (par exemple l'aquaculture et le tourisme). De plus, il n'existe aucune méthode standardisée pour la quantification et la qualification des microplastiques (Bolo & Préville, 2020).

Dans ce contexte, notre étude visait à (i) évaluer quantitativement et qualitativement la contamination en microplastiques des huîtres perlières dans quatre lagons soumis à différentes pressions anthropiques et (ii) étudier la relation entre les taux de contaminations plastiques des huîtres et leurs indices de condition afin d'évaluer le potentiel des huîtres perlières, *Pinctada margaritifera*, en tant qu'espèce tropicale bioindicatrice de la pollution plastique.

4.2 MATERIELS ET METHODES

4.2.1 Sélection des îles et des sites

Pour cette étude, nous avons cherché à sélectionner des atolls présentant des impacts anthropiques variés identifiés dans l'archipel des Tuamotu en Polynésie française. Les atolls des Tuamotu sont principalement connus pour abriter 72 % des concessions perlicoles de Polynésie française (Rapport ISPF, 2021) et pour leurs eaux extrêmement riches en poissons, attirant chaque année de nombreux plongeurs et amateurs de pêche. Parmi les 76 atolls composant cet archipel, nous voulions donc sélectionner des atolls représentatifs des pressions anthropiques majoritaires en Polynésie française avec des niveaux de pollutions théoriquement contrastés. Nous avons cherché à identifier des atolls caractérisés par des activités perlicoles et touristiques de différentes intensités. Toutefois, en raison des spécificités géomorphologiques propres à chaque atoll (taille, profondeur, emplacement géographique, exposition aux vents dominants et du taux de renouvellement en eau des lagons), il n'a pas été possible de trouver des atolls parfaitement identiques.

De plus, le transfert des huîtres perlières est réglementé en Polynésie française afin de prévenir la propagation de maladies et d'épibiontes invasifs entre les îles. Ces transferts doivent faire l'objet d'une demande auprès de la DRM (Direction des Ressources Marines) et recevoir l'accord des communes d'origine et de destination, validé par leurs maires respectifs. Les huîtres doivent également subir un traitement par sursalure ou dessalure afin de les débarrasser de leurs épibiontes. Cependant, certaines îles s'opposent aux transferts d'huîtres. En tenant compte de toutes ces exigences, quatre atolls ont été sélectionnés pour cette étude : Takapoto, Takaroa, Anaa et Tikehau (Figures 21 et 22). La distance maximale entre ces atolls correspond à la distance entre Tikehau et Anaa soit de 390 km. A l'inverse les deux atolls les plus proches sont Takapoto et Takaroa et sont séparés d'un chenal d'environ 9 km.

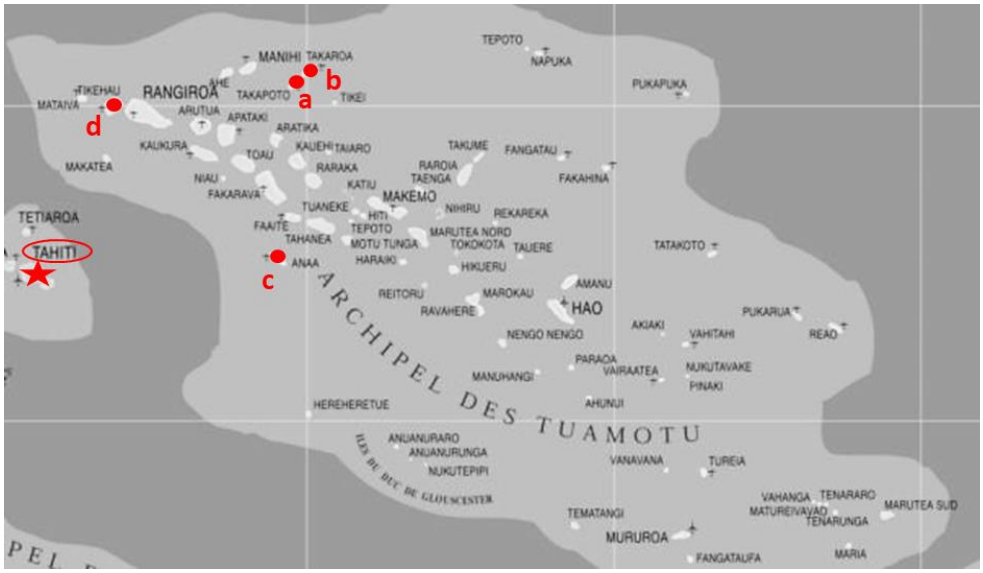


Figure 21. Carte de l'archipel des Tuamotu*. a. Takapoto, b. Takaroa, c. Anaa et d. Tikehau. Tahiti est identifié par une étoile.*

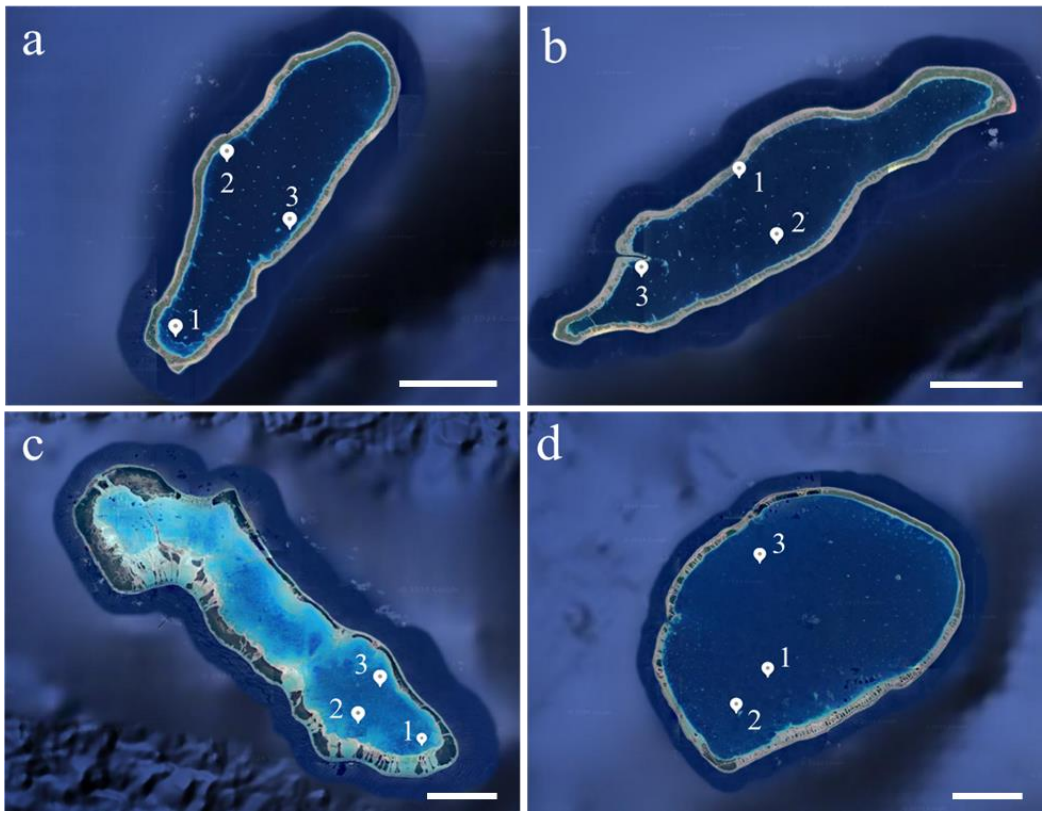


Figure 22. Images satellites des quatre atolls sélectionnés. *a. Takapoto, b. Takaroa, c. Anaa, d. Tikehau. Les points blancs représentent les trois sites choisis par atoll. La barre d'échelle correspond à 5 km. Les images satellites proviennent de Google Earth.*

Parmi eux, Takapoto est représentatif d'une activité perlicole intense. Cet atoll possède une population significative d'huîtres sauvages, permettant la collecte de naissains d'huîtres vendus ensuite à d'autres atolls de l'archipel des Tuamotu (Crusot et al., 2023). Le deuxième atoll choisi est Takaroa. Il était un site prépondérant pour la perliculture jusqu'en 2014. À la suite d'une importante prolifération d'algues connue sous le nom de "Vatia" (IEOM, 2020; Rodier et al., 2019), le taux de recrutement larvaire a drastiquement chuté, mettant gravement en danger l'industrie perlière de ce lagon. Depuis cet événement, de nombreuses concessions perlicoles ont été abandonnées, laissant derrière elles des vestiges de matériaux plastiques témoignant de l'activité passée de ce secteur. Le troisième atoll principalement connu des 2 300* pêcheurs sportifs américains qui le visitent chaque année, se trouve à l'ouest de l'archipel et s'appelle Anaa. Enfin, le dernier atoll sélectionné est l'un des sites de plongée les plus populaires en Polynésie. Les quelques 560 habitants annuels de Tikehau voient chaque année près de 13 000 touristes* (principalement des plongeurs) plonger dans leur lagon. Sur ce même atoll, une concession perlicole de 0.1 km^2 est présente et appartient à un motu privé situé au centre du lagon. Cependant l'activité sur place semble réduite et aucun produit perlicole provenant de Tikehau n'a été déclaré récemment.

*(*Aucune donnée officielle n'est disponible sur le nombre de touristes visitant ces atolls chaque année. Nous avons estimé les flux touristiques sur la base de la fréquence des vols de Tahiti vers ces atolls et du taux d'occupation moyen des avions).*

Table 6. Coordonnées géographiques des 12 sites de la mission « Huîtres Sentinelles ».

Atoll	Site	Coordonnées
Takapoto	1	S : 14°41'59.136" W : 145°14'32.424"
	2	S : 14°36'1.537" W : 145°12'42.38"
	3	S : 14°39'8.028" W : 145°12'8.783"
Takaroa	1	S : 14°26'19.356" W : 145°59'10.571"
	2	S : 14°27'34.812" W : 145°57'33.623"
	3	S : 14°29'0.852" W : 145°1'50.807"
Anaa	1	S : 17°29'4.848" W : 145°24'41.075"
	2	S : 17°28'8.472" W : 145°26'39.731"
	3	S : 17°27'10.044" W : 145°26'2.039"
Tikehau	1	S : 15°2'11.76" W : 148°10'41.339"
	2	S : 15°4'43.212" W : 148°13'22.44"
	3	S : 14°58'17.724" W : 148°14'7.872"

Dans chacun de ces quatre atolls, trois sites étaient définis (Tableau 6). Ils devaient répondre à plusieurs critères tels qu'une profondeur permettant aux huîtres d'être immergées à environ 5 mètres, ne pas obstruer les chenaux de navigation et être facilement accessibles. Ces sites étaient soit situés sur des concessions existantes perlicoles, ou bien ont fait l'objet de demandes de concession officielles auprès de la DRM afin de pouvoir y installer les huîtres. Les caractéristiques géomorphologiques de ces atolls et les différentes pressions exercées par l'activité humaine sont résumées dans le Tableau 7.

***Table 7. Caractéristiques des lagons étudiés**. La colonne « Superficie » correspond à la superficie totale du lagon, « Profondeur » représente la profondeur moyenne du lagon, et la colonne « Passe » fournit des informations sur les échanges d'eau entre le lagon et l'océan. Un 'Hoa' fait référence à un passage non navigable entre le lagon et l'environnement océanique. Le « Temps de résidence de l'eau » est une valeur estimée dans des conditions moyennes de vagues. Les données pour ces colonnes initiales sont issues de l'étude de Pagès & Andréfouët, (2001). La colonne « Résidents » fait référence au nombre d'habitants officiellement enregistrés dans ces atolls en 2023, tandis que « Perliculture » indique si des activités perlicoles sont déclarées dans le lagon. Les données sur la « Surface des concessions » ont été fournies par la DRM et font référence aux zones perlicoles officiellement accordées en 2024. La colonne « Nombre de tourisme » indique le nombre de touristes estimé en 2023.*

	Impacts anthropiques				Caractéristiques géomorphologiques			
Atoll	**Perliculture**	**Surface de concessions (km2)**	**Nombre de touristes**	**Residents**	**Superficie (km2)**	**Profondeur (m)**	**Passe**	**Temps de résidence de l'eau (jours)**
Takapoto	Oui	1.39	x	880	81	25	Pas de passe, échange par 'Hoa'.	268
Takaroa	Oui	2.92	x	380	89	30	Passe à l'ouest	76
Anaa	Non	x	2 300	800	106	4	Pas de passe, échange par 'Hoa'.	9
Tikehau	Oui	0.1	13 000	560	394	28	Passe à l'ouest	28

4.2.2 Les huîtres perlières, sentinelles des lagons ?

Les pressions anthropiques et naturelles, qui pèsent sur les écosystèmes, constituent des préoccupations majeures qui motivent le développement d'outils adaptés pour la surveillance et l'alerte en cas de dépassement des seuils critiques pour les environnements surveillés. C'est dans ce contexte que l'utilisation d'espèces bioindicatrices a émergé, servant de véritables sentinelles de l'état écologique des milieux. Les espèces bioindicatrices doivent cependant répondre aux critères suivants comme avoir : une large distribution permettant de comparer l'état écologique de différents sites, une biologie bien connue, une sédentarité fournissant des informations

spécifiques locales, une capacité à fournir des alertes précoces, une fonction clé dans l'écosystème, une réponse homogène aux polluants et l'existence d'effets toxiques identifiables associés aux différents degrés de pollution (Li et al., 2019). Le potentiel des bivalves dans ces évaluations a été largement exploré (Ding et al., 2021; Multisanti et al., 2022; Prokić et al., 2021). Leur mode de nourrissage par filtration, rend ces animaux extrêmement dépendants de la qualité de leur environnement. Leur grande capacité de filtration les rend aussi particulièrement sensible à la présence de MPs qui une fois filtrés par l'animal peuvent être soit expulsés, soit présents à la surface des lames branchiales ou bien être absorbés dans le cas des particules de très petites tailles comme les nanoplastiques. Des MPs ont ainsi été observés dans l'hémolymphe de bivalves, *Mytilus edulis,* après exposition des animaux à des microsphères de 0.5 µm de polystyrène pendant 24 heures (Farrell & Nelson, 2013). La présence de plastique chez les bivalves représente à la fois une contrainte physique pour l'animal, accumulant des fragments et fibres de MPs, pouvant affecter la reproduction (Sussarellu et al., 2016), leur capacité de filtration et donc leur alimentation (Gardon et al., 2018), et pouvant également causer des altérations tissulaires (Von Moos et al., 2012). Des impacts chimiques ont également été mis en évidence. En effet, après ingestion, les contaminants chimiques accumulés dans les MPs peuvent migrer dans les organismes et se retrouver dans les tissus des bivalves (Mark A. Browne et al., 2008). Cela peut avoir des répercussions physiologiques et des effets toxiques pour les animaux, tels que des retards de croissance et de développement ou des perturbations hormonales (Gandara e Silva et al., 2016; Gardon et al., 2020a; Ke et al., 2019). En plus de leur utilisation comme outil biologique, les bivalves sont largement consommés par les humains, nécessitant un suivi accru de leur qualité (Garrido Gamarro et al., 2020; Ribeiro et al., 2017). De plus, ces animaux occupent une place écologique prépondérante dans les écosystèmes en raison de leur implication dans de nombreux transferts biogéochimiques du plancton vers les sédiments. Ils sont également importants dans les réseaux trophiques, en tant que consommateurs primaires ils peuvent transférer les polluants persistants aux niveaux trophiques supérieurs (Garrido Gamarro et al., 2020; Ribeiro et al., 2017). Il est donc important de surveiller l'état de santé de ces espèces clés face aux nombreux changements auxquels elles sont soumises, et notamment face à l'augmentation de la pollution plastique enregistrée dans les océans au cours des dernières décennies (Windsor et al., 2019).

En Polynésie française, l'huître perlière *Pinctada margaritifera* répond à de nombreux critères qui pourraient faire de cette espèce une sentinelle pour l'évaluation des niveaux de pollution

plastique et plus généralement de l'état écologique des lagons. Cette espèce filtreuse sessile est largement répartie dans les archipels de la Polynésie française (Andréfouët et al., 2016; Bionaz et al., 2022). *P. margaritifera* possède une capacité de filtration estimée à 25,88 $L.h^{-1}.g^{-1}$ de matière sèche (Pouvreau et al., 1999), ce qui la place parmi les filtreurs les plus importants connus. Comme mentionné précédemment, pour être considérée comme bioindicatrice, l'espèce choisie doit répondre à plusieurs critères. Tout d'abord, l'espèce doit présenter des effets mesurables en réponse à l'exposition au contaminant d'intérêt, en l'occurrence le plastique. Des études antérieures menées par Gardon et *al*. ont déjà confirmé ce point. Après exposition d'individus adultes de *P. margaritifera* à des microbilles de polystyrène d'une taille comprise entre 6 et 10 µm pendant 2 mois, les animaux ont montré une diminution dose-dépendante de l'efficacité d'assimilation, de l'énergie allouée à la croissance et à la gamétogenèse, ainsi qu'une modulation de l'expression de certains gènes, notamment ceux liés aux processus de détoxication et ceux impliqués dans la réponse immunitaire (Gardon et al., 2018; Gardon et al., 2020b). L'impact plus ciblé des produits chimiques associés aux plastiques utilisés en perliculture a été démontré sur les larves d'huîtres perlières. Après 24 heures d'exposition aux lixiviats plastiques (100 g de plastique/L), les larves de *P. margaritifera* ont montré un retard de développement et des taux de mortalité accrus par rapport aux conditions témoins (Gardon et al., 2020a). La sensibilité des huîtres perlières à la pollution plastique, observée en laboratoire, a motivé la mise en place d'un suivi *in situ* de la contamination en MPs et de l'état de santé d'animaux vivants dans des environnements impactés par les activités humaines.

C'est pourquoi en 2021 était lancé le projet « Huîtres Sentinelles ». Tout d'abord, en août (t_0), les huîtres ont été collectées à Takapoto dans l'archipel des Tuamotu. Afin d'avoir une population d'huîtres homogène en taille et en âge, 1 240 *Pinctada margaritifera* mesurant entre 6.5 à 9.0 cm ont été sélectionnées. Quarante huîtres ont été sacrifiées à t_0 pour obtenir des mesures initiales du glycogène musculaire et de la concentration de MPs dans leur chair. Les 1 200 huîtres restantes ont été réparties au hasard en quatre lots de 300 huîtres chacun, et disposées en chapelets de 20 huîtres. Chaque huître a été numérotée pour réaliser un suivi individuel tout au long de l'expérience. Par la suite, les chapelets d'huîtres ont été transportés vers les quatre atolls sélectionnés. Sur chaque site (trois par atoll), cinq chapelets de 20 huîtres ont été déployés à 5 mètres de profondeur, soit un total de 100 huîtres par site. Des grilles en

plastique avec une maille de 3 cm ont été utilisées pour protéger les chapelets d'huîtres contre la prédation.

4.2.3 Suivi des paramètres environnementaux

Pour suivre les conditions environnementales dans les lagons, des capteurs de température (Modèle iBee 22L, de la marque Humeau) ont été installés à chaque site, enregistrant les mesures toutes les heures. De plus, une sonde multiparamétrique (modèle SAMBAT de la marque NKE, équipée d'un capteur de température, de pression, d'O_2 dissout et d'un fluorimètre à chlorophylle A) a été immergée dans chaque lagon pour recueillir des données environnementales plus exhaustives, notamment la température et la concentration en chlorophylle à chaque heure tout au long de l'expérience. Les données des capteurs de température et des sondes ont été collectées lors de nos visites sur le terrain en novembre 2021 (t_1) et en mars 2022 (t_2).

4.2.4 Suivi physiologique des huîtres perlières

La sélection d'indicateurs de condition de l'état de santé des huîtres a été déterminée à l'aide de plusieurs critères. Les paramètres choisis devaient déjà avoir été identifiés lors de précédentes études comme étant impactés par la présence de plastique dans l'environnement. De plus, il était nécessaire de sélectionner des paramètres simples à mesurer et à analyser avec l'équipement disponible localement. Dans le cadre de l'établissement d'un réseau de surveillance potentiel futur de la qualité de l'eau dans les lagons polynésiens, le protocole de surveillance des huîtres devrait être facilement applicable par du personnel formé.

4.2.4.1 Taux de croissance

Lors de chaque série d'échantillonnage en août 2021 (t_0), novembre 2021 (t_1) et mars 2022 (t_2), nous avons mesuré la largeur maximale de chaque individu à l'aide d'un pied à coulisse. Puis le taux de croissance journalier individuel de chaque huître a été calculé par la formule : largeur initiale - largeur finale / nombre de jours de l'expérience.

4.2.4.2 Quantification du glycogène musculaire

La présence de plastique dans l'environnement peut entraîner des impacts négatifs sur les réserves énergétiques des animaux exposés. Cela a précédemment été observé chez des poissons, *Oryzias latipes,* exposés à des microplastiques de polyéthylène et pour des moules, *Mytilus coruscus* évoluant dans des milieux contenant des doses élevées de microparticules de polystyrène (Rochman et al., 2013; Shang et al., 2021). Cette diminution des réserves de glycogène indique que lorsque les animaux sont soumis à de fortes concentrations de particules de MPs (10^4 à 10^6 particules/L), leurs demandes énergétiques ne sont pas compensées par une absorption énergétique suffisante ce qui conduit à une balance énergétique déficitaire (Shang et al., 2021). Une expérience d'exposition d'huîtres perlières *Pinctada margaritifera* à 0.25, 2,5 et 25 $\mu g.L^{-1}$ (soit respectivement 3.2×10^2, $\times 10^3$, $\times 10^4$ particules. L^{-1}) de microbilles de polystyrène, a également mis en évidence un impact significatif sur l'efficacité d'assimilation et plus largement le bilan énergétique de ces animaux (Gardon et al., 2018). Les réserves énergétiques des animaux et donc la concentration en glycogène de leurs muscles, est impactée par la présence de plastiques dans leur milieu. L'un des indicateurs choisis pour évaluer l'état physiologique des huîtres perlières était donc la quantification de la concentration en glycogène de leur muscule adducteur. Pour ce faire, dix huîtres ont été sélectionnées aléatoirement à chaque site puis sacrifiées aux temps t_1 et t_2. Leurs muscles ont été congelés à -20 °C. Environ 100 mg de la partie centrale du muscle adducteur de l'huître était prélevée et transférée dans des tubes Eppendorf auxquels étaient ajoutés 500 µL d'acide trichloroacétique (TCA) et trois billes en acier inoxydable. Les échantillons étaient broyés pendant 5 minutes avec un broyeur réglé à 30 battements par seconde. Une fois l'échantillon broyé, 2,5 mL de TCA à 15 % étaient ajoutés. L'échantillon était incubé à 4 °C pendant une heure. Le tube était ensuite centrifugé pendant 10 minutes à 3 000 g et à une température de 4 °C. Après centrifugation, 1,5 mL de surnageant était récupéré du tube et complété avec 12 mL d'éthanol à 96 %. Les échantillons étaient ensuite stockés à 4 °C pendant 12 heures avec agitation (plateau agitant). Le lendemain, les tubes étaient centrifugés à 4 °C pendant 30 minutes à 4 000 g. Le surnageant était retiré, et 200 µL d'eau pure étaient ajoutés au pellet avant un bref vortex pour resolubiliser le culot (contenant le glycogène). La quantification du glycogène est possible grâce à une réaction colorimétrique avec l'anthrone-acide sulfurique. L'absorbance du complexe coloré résultant était mesurée à une longueur d'onde de 620 nm (FLUOstar, BMG Labtech). Une gamme étalon a été réalisée à partir d'une

solution de glycogène d'huître commerciale (référence G8751-5G, SIGMA-Aldrich) de concentration connue (4 mg/mL). Des puits contenant de l'eau pure ont servi de témoins négatifs. La concentration de glycogène étant proportionnelle à l'absorbance de nos échantillons, il a été possible d'obtenir la concentration grâce à une relation linéaire existant entre l'absorbance et la concentration de glycogène. Le glycogène est ensuite exprimé en mg/g de muscle humide.

4.2.5 Quantification des particules de microplastiques

4.2.5.1 Échantillonnage des huîtres

Pour la quantification MPs, dix huîtres de chaque site et à chaque temps ont été échantillonnées. Les animaux ont été ouverts, et la totalité de la chair a été récupérée puis congelée à -20 °C dans des sachets Zip avant leur traitement au Centre Ifremer du Pacifique (CIP).

4.2.5.2 Echantillonnage de la colonne d'eau

Pour évaluer la contamination par les microplastiques de la colonne d'eau, nous avons utilisé un filet à plancton cylindro-conique standard avec une ouverture de 50 cm de diamètre, composé d'une maille de 20 µm et équipé d'un collecteur à son extrémité. Les échantillons de colonne d'eau ont été collectés à t_2, en mars 2022, à chacun des 12 sites. Avant le déploiement du filet, un sonar portatif a été utilisé pour mesurer la profondeur exacte du site afin d'éviter d'entrer en contact avec le fond et de remettre en suspension les sédiments. Le filet était déployé près du fond, puis récupéré manuellement à une vitesse lente. Après la récupération, le filet était rincé sur ses surfaces extérieures pour concentrer les particules dans le collecteur à partir des parois du filet. Le contenu du collecteur a ensuite été transféré directement dans un bocal en verre hermétiquement fermé et conservé au frais dans l'attente de son analyse.

4.2.5.3 Traitement des échantillons en laboratoire

La quantification des microparticules présentes dans la chair d'huître et dans la colonne d'eau nécessite une digestion de la matière organique. Toutes les solutions utilisées dans les étapes de digestion étaient préalablement filtrées sur filtre GF/A (porosité 1.6 µm, Ø 90 mm, Whatman) pour éviter toute contamination par les MPs. La digestion des échantillons était réalisée en deux étapes dans des bocaux en verre refermables préalablement nettoyés à l'eau MilliQ filtrée. La première digestion était effectuée à l'hydroxyde de potassium (KOH) 10 M à 40 °C pendant 48 heures avec agitation magnétique à 300 rpm (rotations par minute). Le volume ajouté de KOH correspondait au volume nécessaire pour recouvrir entièrement l'huître, ce volume pouvait être variable compte tenu de la différence de taille des huîtres. Au terme de la première étape de digestion, le digestat obtenu était filtré sur un filtre de maille 20 µm et rincé à l'eau MilliQ afin de le débarrasser des résidus de KOH. Puis, la deuxième étape de digestion était réalisée en ajoutant 50 mL de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) à 30 % à température ambiante pendant 24 heures avec agitation magnétique à 300 rpm. Après la deuxième digestion, les échantillons étaient tamisés à travers un filtre de maille de 20 µm et rincés à l'eau distillée filtrée pour éliminer toutes traces d'H_2O_2. Les échantillons étaient filtrés à l'aide de filtres GF/C (porosité 1,2 µm, Ø 47 mm) préalablement brûlés à 450 °C pendant 4 heures dans un four de pyrolyse pour éliminer toute trace de matière organique. Pour chaque lot d'échantillons, des témoins d'eau distillée filtrée étaient préparés pour surveiller les contaminations éventuelles à chaque étape du traitement. Les filtres d'huîtres, d'eau, et des témoins furent ensuite transportés dans des boîtes de Petri individuelles au laboratoire LDCM (Laboratoire Détection Capteurs et Mesures, Ifremer, Brest, France) en vue de leur analyse spectroscopique.

4.2.5.4 Identification de la nature des particules par spectroscopie Raman

La spectroscopie Raman est une technique non destructive basée sur la diffusion de la lumière par les molécules d'un matériau, permettant d'obtenir une signature spectrale caractéristique de sa composition chimique (Smith & Dent, 2019). Elle est particulièrement utile pour l'identification des polymères, des minéraux et d'autres substances dans des échantillons complexes, notamment dans le cadre de l'analyse de microplastiques (Araujo et al., 2018). L'équipement utilisé était un spectromètre Raman micro-Alpha 300R (Oxford Instrument/WITec, Allemagne) équipé d'un laser à 785 nm et du module ParticleScout.

La première étape de l'analyse spectrale consistait à prendre des images haute définition de l'ensemble des filtres au grossissement 5x en mode confocal multicouches. Le nombre total de particules par filtre était alors calculée grâce au module ParticuleScout en effectuant une limite de taille à 40 µm. Si le nombre de microparticules était inférieur à 500, toutes les particules étaient analysées. Lorsque le nombre de microparticules dépassait 500, un sous-échantillonnage avec une sélection aléatoire des particules s'effectuait en utilisant la méthode de Kedzierski et al., (2019) avec un taux d'erreur de 5 %.

Le module ParticuleScout, intégré au spectromètre Raman Alpha 300R, offre une solution avancée pour l'analyse semi-automatisée des particules. Il fonctionne en détectant automatiquement les particules présentes dans un échantillon grâce à des techniques sophistiquées de traitement d'image. Une fois les particules localisées, ParticuleScout effectue une cartographie Raman détaillée, permettant l'acquisition de spectres Raman spécifiques pour chaque particule, ce qui conduit à leur identification précise (Witec, 2019). Les spectres obtenus pour chaque échantillon étaient comparés à une base de données regroupant des signatures spectrales de polymères plastiques, de minéraux et de matières organiques via une interface R Studio. Lorsque la correspondance entre le spectre de référence et la particule était supérieure à 60 %, l'identification de la nature de la particule était validée. En dessous de ce seuil, si la qualité du spectre n'était pas bonne ou bien si la signature n'était pas référencée dans la base de données, la particule était affiliée à la dénomination « NI » pour « Non identifiée ». Les échantillons témoins étaient analysés de la même manière.

4.2.5.5 Contrôle de qualité : Réalisation de témoins de contamination

Des échantillons témoins étaient réalisés afin de suivre la contamination potentielle des échantillons par des sources extérieures tout au long de leur traitement. Tout d'abord, nous avons réalisé des « témoins terrain ». Lors du déploiement du filet, un blanc de terrain était effectué pour chaque site échantillonné. De l'eau de mer était filtrée à travers une maille de 20 µm puis transférée dans un bocal. Le bocal restait ouvert sur le bateau pour enregistrer le dépôt d'éventuelles particules atmosphériques pendant l'échantillonnage de la colonne d'eau. Puis, lors des phases de digestion, les échantillons d'eau et d'huîtres étaient traités cinq par cinq (contraintes logistiques dues au nombre limité d'agitateurs magnétiques). A chaque lot d'échantillons, un « témoin paillasse » était réalisé. Il s'agissait d'un bocal en verre propre

rempli d'eau MilliQ filtrée sur filtre GF/A (porosité 1.6 µm, Ø 90 mm, Whatman). Ce bocal d'eau subissait le même processus de traitement que les véritables échantillons. Si les contaminations des témoins en polymères plastiques étaient inférieures à 20 % des quantités totales retrouvées dans les échantillons du lot, les échantillons étaient corrigés par les témoins et conservés. Si la contamination était supérieure à 20 % les échantillons étaient retirés de l'étude.

4.2.6 Analyses statistiques

La normalité des données a été évaluée à l'aide du test de Shapiro-Wilk (Shapiro & Wilk, 1965) et l'homoscédasticité avec le test de Levene (Levene, 1960). Si les hypothèses de normalité et d'homoscédasticité étaient respectées, nous avons réalisé une analyse de variance (ANOVA), suivie d'un test post hoc de Tukey (Tukey, 1949) pour comparer les moyennes entre groupes. Cependant, si l'une de ces hypothèses était violée ($p < 0.05$), des tests non paramétriques étaient utilisés. Le test de Kruskal-Wallis (Kruskal & Wallis, 1952) a été utilisé comme alternative à l'ANOVA pour comparer les groupes, car il ne nécessite pas l'hypothèse de normalité des données. Ensuite, un test post hoc de Wilcoxon (Wilcoxon, 1945) avec correction de Bonferroni a été appliqué pour identifier les différences spécifiques entre les groupes. Le seuil de significativité choisi pour ces analyses était de 0.05. Toutes les analyses ont été réalisées à l'aide de R 4.0.5.

4.2.7 Corrélation des variables et régression linéaire

Une corrélation de Pearson a été réalisée entre les variables biotiques et abiotiques de notre jeu de données pour identifier les facteurs contribuant le plus aux variations de la concentration du glycogène musculaire et au taux de croissance des huîtres. Puis, des régressions linéaires ou des régressions linéaires avec un terme quadratique ont été effectuées en choisissant le modèle proposant le meilleur ajustement (Montgomery et al., 2021). Ces régressions permettent d'évaluer la relation entre les indices de condition des huîtres et les paramètres environnementaux enregistrés (Draper, 1998). Les analyses ont été procédées avec le logiciel de R 4.0.5.

4.3 RESULTATS

4.3.1 Comparaison du taux de croissance des huîtres des quatre atolls

En comparant les taux de croissance des huîtres implantées dans les quatre atolls étudiés, des différences significatives ont été observées. Tout d'abord, il est important de souligner que le taux de croissance est plus élevé pour toutes les îles pendant la période de surveillance initiale entre août et novembre (Figure 23.a.) qu'entre novembre et mars (Figure 23.b.). Les taux de croissance moyens enregistrés pendant la deuxième période étaient respectivement 15, 2, 2 et 4.4 fois inférieurs à ceux enregistrés au cours des trois premiers mois à Takapoto, Takaroa, Anaa et Tikehau (Figure 23). En examinant les variations de croissance intra-îles, des différences significatives sont notées entre les sites de Takapoto (à t_1 et t_2), Takaroa (à t_1 et t_2) et Tikehau (à t_2). Seuls les sites d'Anaa n'ont montré aucune différence significative en termes de croissance quelle que soit la période considérée. Toutes les valeurs de P-value calculées sont fournies en Annexes 1 et 2.

En comparant les taux de croissance inter-îles à t_1, des différences significatives sont observées dans les taux de croissance des huîtres d'Anaa par rapport à Takapoto (valeur de P-value < 0.0001) et Takaroa (valeur de P-value < 0.0001). La croissance mesurée à Tikehau était significativement plus élevée que celle des atolls de Takapoto (valeur de P = 0.006) et Takaroa (valeur de P-value < 0.0001). Takapoto enregistre une croissance significativement plus élevée que Takaroa (valeur de P-value < 0.05). Pour la deuxième période, la croissance mesurée était significativement différente entre tous les atolls (valeur de P < 0.0001).

Au cours du temps entre t_0-t_1 et t_1-t_2, des variations significatives sont observées tant dans les taux de croissance intra-îles qu'inter-îles. Ainsi, à t_1, le meilleur taux de croissance est enregistré à Anaa, suivi de Tikehau, Takapoto et Takaroa où les huîtres croissent le moins. Les classements sont redistribués à t_2, avec Anaa toujours en première place mais cette fois Takaroa prend la deuxième place sur le podium, suivi de Tikehau et ensuite Takapoto, où le taux de croissance enregistré est presque nul au site 2 et très faible aux autres sites de cet atoll

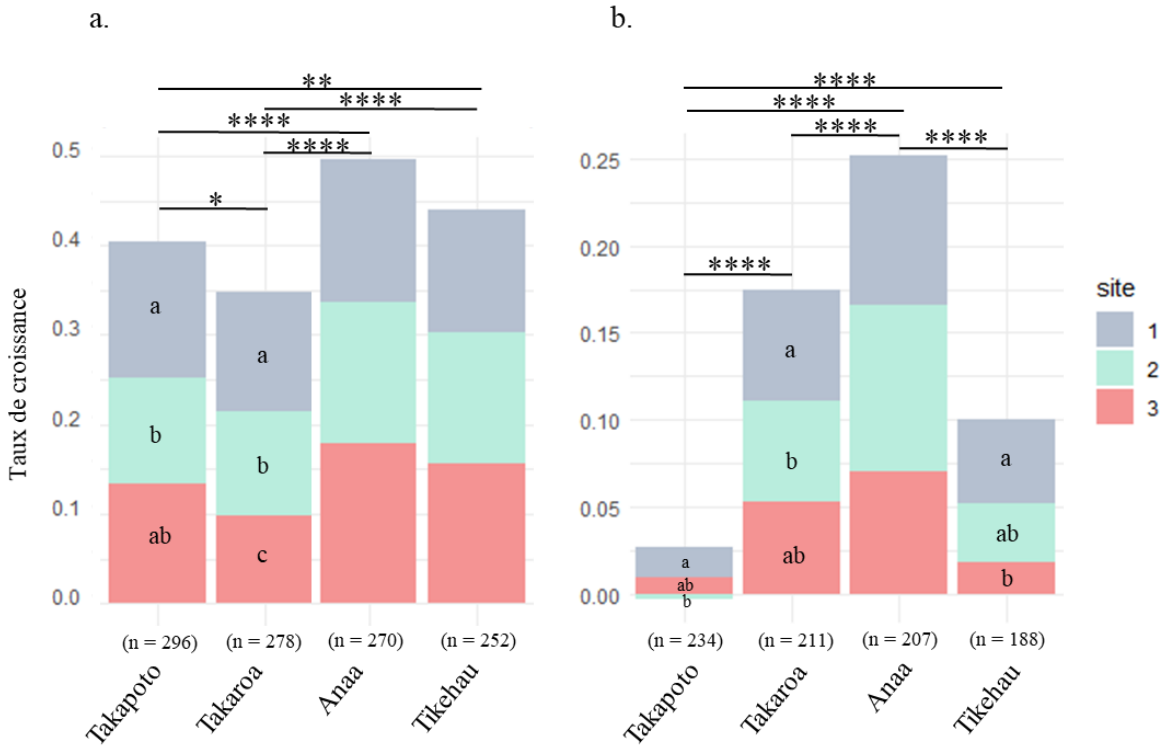


Figure 23. Comparaison des taux de croissance intra et inter-iles *entre (a) aout 2021 (t0) et novembre 2021 (t1) et (b) novembre 2021 et mars 2022 (t2). « n » représente le nombre de d' huîtres mesurées par ile. P-value < 0.05 = *, P-value < 0.01 = **, P-value < 0.001 = ***, P-value < 0.0001 = ****.*

4.3.2 Comparaison de la concentration de glycogène des huîtres des 4 atolls

Le taux de glycogène est resté stable pour Takapoto à t_1 et t_2 mais pour les autres atolls on observe des variations entre les deux temps d'observation. La concentration en glycogène a été divisée par deux pour Takaroa entre $t_1$et t_2. A l'inverse, on observe une augmentation de la concentration de glycogène pour les huîtres entre t_1 (Figure 24.a.) et t_2 (Figure 24.b.) de 1.7 fois plus pour Anaa et 1.3 fois plus pour Tikehau. Ainsi, on note une hétérogénéité dans l'évolution de la concentration de glycogène musculaire des huîtres en fonction de l'atoll considéré. En se concentrant sur les variations intra-îles, des différences entre les sites de Takapoto et Takaroa

sont apparues à t_2 (valeur de $P < 0.001$) et à $t_1$et t_2 entre les sites d'Anaa. Les huîtres du site 1 de cet atoll ont une concentration de glycogène plus élevée (valeur de $P < 0.05$). Il n'y a pas de différence significative enregistrée concernant le taux de glycogène pour les huîtres en provenance des différents sites de Tikehau quelle que soit la période considérée.

La mesure du glycogène a mis en évidence des variations inter-îles existantes. À t_1, les huîtres ayant séjourné trois mois à Takapoto avaient un taux de glycogène significativement plus faible que celles d'Anaa (valeur de $P < 0.001$) et Tikehau (valeur de $P = 0.002$). À t_2, le taux de glycogène mesuré à Anaa domine significativement celui des autres îles (valeur de $P < 0.001$), et les huîtres de Tikehau avaient une concentration de glycogène musculaire mesurée plus élevée par rapport à Takapoto (valeur de $P < 0.0001$) et Takaroa (valeur de $P < 0.001$). À t_2, l'écart dans les différences de glycogène semble être accentué, et les huîtres d'Anaa suivies de celles de Tikehau dominent significativement les taux de concentration enregistrés comparé aux atolls perlicoles (Annexes 1 et 2).

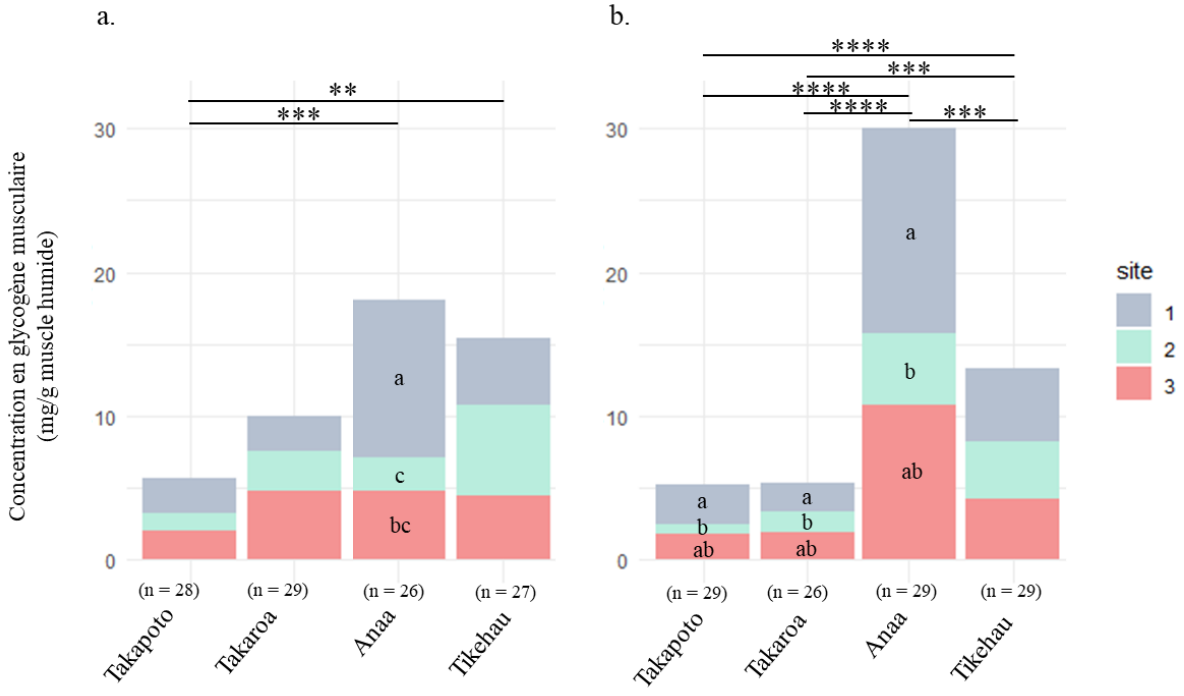


Figure 24. Comparaison de la concentration en glycogène musculaire intra et inter-iles *entre (a) août 2021 et novembre 2021 (t1) et (b) novembre 2021 et mars 2022 (t2). « n » représente le nombre de mesures par île. P-value < 0.05 = *, P-value < 0.01 = **, P-value < 0.001 = ***, P-value < 0.0001 = ****.*

4.3.3 Quantification et qualification des microparticules retrouvées dans les huîtres

Avant toute chose il est important d'évoquer que l'analyse des témoins de terrain et de laboratoire a révélé la contamination de certains lots. Ainsi sur les 40 huîtres analysées au Raman, seules 24 (60 %) ont été conservées après analyse du niveau de contamination de leur témoin associé (Annexe 3). Les autres jugées trop contaminées ont été retirées de l'étude.

Les résultats suivants sont basés sur des huîtres échantillonnées à t_1 et t_2. Pour chaque échantillon analysé au Raman, plusieurs informations nous étaient spécifiées. Tout d'abord nous avions le nombre total de particules par échantillon. Ces particules pouvaient être des

minéraux, de la cellulose, des polymères plastiques ou bien n'ont pu être identifiées et étaient classée comme « NI » (Annexe 3). Le logiciel de traitement d'image développé par Witec, et intégrer au Raman, nous renseignait également sur la taille et la forme (« aspect ratio ») de chaque particule.

4.3.3.1 Identification de la nature des différentes particules retrouvées dans les huîtres en fonction de l'atoll

Dans un premier temps nous avons voulu caractériser la nature de l'ensemble des particules retrouvées dans les huîtres en fonction de leur atoll de provenance. Pour cela nous avons sommé l'ensemble des particules identifiées d'huîtres provenant d'un même atoll puis réalisé les pourcentages relatifs des différentes natures identifiées. Nous avons dénombré quatre classes de particules naturelles : calcite, cellulose, minéral (autre que la calcite) et les pigments. Une classe nommée « plastique » regroupait tous les différents polymères plastiques répertoriés. Ils seront analysés plus en détails par la suite. Enfin une dernière catégorie « Non identifié » correspond aux spectres qui n'ont pas eu de correspondance suffisante avec les spectres de la base de données (Figure 25). La majorité des particules retrouvées dans les huîtres appartiennent à la catégorie « NI », à l'exception des huîtres de Takapoto. En effet, pour cet atoll la nature majoritaire relevée est la calcite. Pour les autres atolls, nous avons trouvé des proportions modérées de calcite allant de 1.6 à 8.1 %. La troisième catégorie majoritaire correspond aux particules de plastiques. Nous avons trouvé des MPs dans toutes les huîtres échantillonnées mais en proportions très variables en fonction des huîtres. Les huîtres de Takaroa sont celles qui ont révélées la fraction relative la plus importante de plastique (21.6 % en moyenne). Les huîtres 363, 442, et 587 provenant des trois sites de Takaroa, avaient toute plus de 40 % de particules appartenant à la catégorie plastique (Annexe 4). La cellulose, les minéraux autre que la calcite et les pigments étaient moins présents dans nos échantillons. Cependant les pourcentages relatifs les plus importants de ces catégories ont été identifiés à Takaroa. Les huîtres 363, 473 et 587 comportaient plus de 7 % de cellulose (Annexe 4). Quant à l'huître numéro 442, celle-ci contenait plus de 22 % de pigments. Les pigments retrouvés dans les échantillons peuvent provenir de plusieurs sources naturelles ou bien anthropiques. L'érosion des roches peut libérer des pigments comme les oxydes de fer, les sulfures de fer ou le manganèse. Ils peuvent également être issus de la dégradation de peintures, comme celles

utilisées pour les coques de bateaux (peintures antifouling), ou bien entrer dans la composition de produit de beauté ou de résidus agricoles et être transportés au milieu marin par les eaux usées. Les tests statistiques non paramétriques de Kruskal-Wallis réalisés sur chaque catégorie de particules n'ont révélé aucune différence significative entre les différents atolls (Annexe 5).

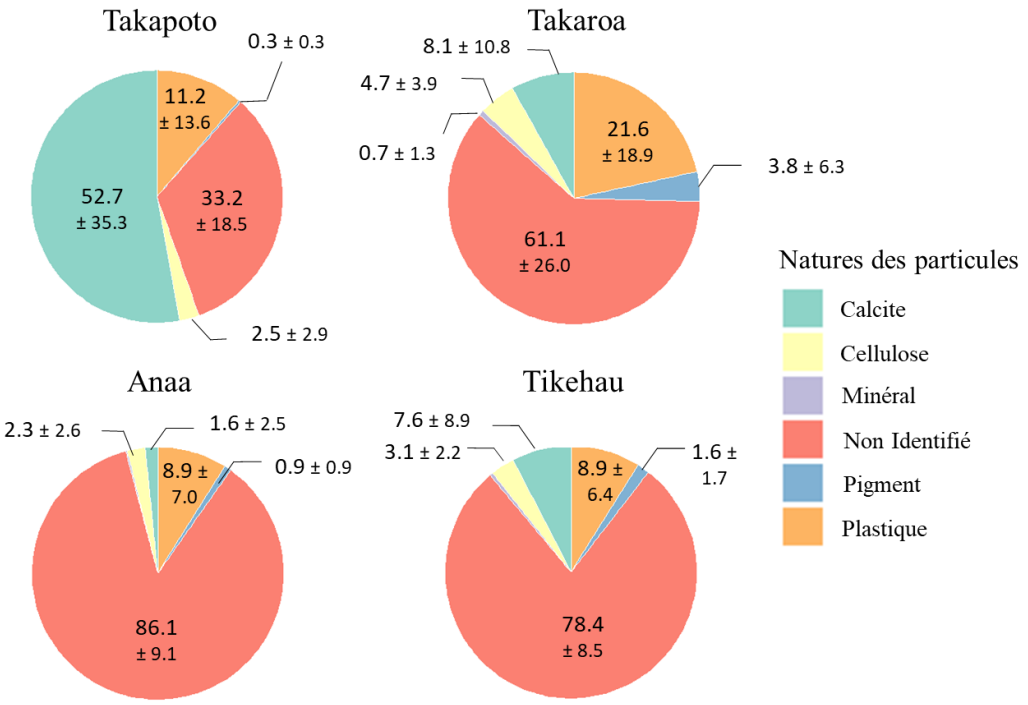


Figure 25. Pourcentages relatifs des différentes natures de particules retrouvées dans les huîtres *(échantillonnées à t1 et t2) n fonction des différents atolls. (Takapoto : n = 2, Takaroa : n = 11, Anaa : n = 4 et Tikehau : n = 7).*

4.3.3.2 Taille des microparticules

Grâce aux caractéristiques physiques renseignées par le logiciel Witec, nous avons défini 10 classes de tailles. La haute résolution du spectromètre Raman nous permettait en théorie d'analyser des particules jusqu'à 10 µm. Les tests réalisés manuellement sur quelques particules de 20 µm étaient concluants. Cependant lorsque l'on programmait une analyse automatique des particules, nous avons remarqué que les spectres réalisés sur de très petites particules étaient souvent de mauvaise qualité et ne permettaient par la suite pas d'identifier la nature des dites particules. Ainsi afin de diminuer le pourcentage de « NI » nous avons choisi de déterminer la

taille limite d'analyse des particules à 40 µm. La majorité des particules identifiées chez les huîtres des quatre atolls, appartiennent à la classe « 50-100 », puis « 100-150 » et enfin les catégories « 150-200 » et « 200-400 » µm ont des pourcentages relatifs comparables pour l'ensemble des atolls étudiés. Les particules supérieures à 400 µm représentent moins de 6 % des particules retrouvées en moyenne dans les huîtres (Figure 26). Néanmoins, aucune différence significative entre les atolls n'a été mise en évidence par les tests non paramétriques de Kruskal-Wallis pour les différentes catégories de tailles de particules retrouvées chez les huîtres.

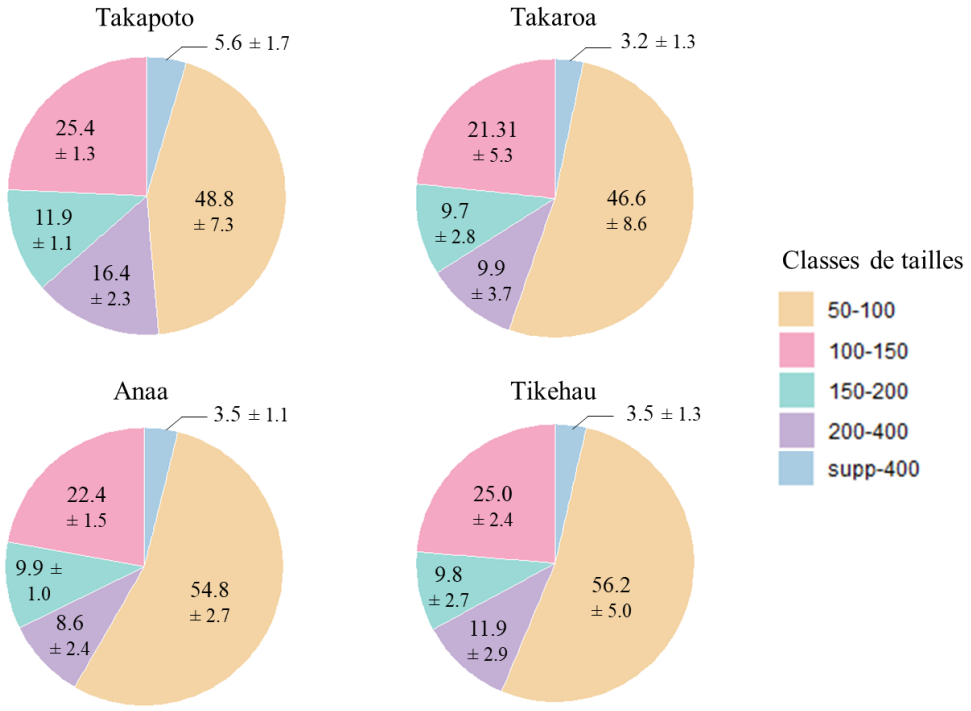


Figure 26. Pourcentages relatifs des différentes classes de tailles de particules *(exprimées en micromètre) retrouvées dans les huîtres (échantillonnées à t1 et t2) en fonction des différents atolls. (Takapoto : n = 2, Takaroa : n = 11, Anaa : n = 4 et Tikehau : n = 7).*

4.3.3.3 Aspect ratio des microparticules

L'aspect ratio correspond à un indice d'approximation de la forme des particules. Une particule dite fibreuse est au moins quatre fois plus longue que large. Ainsi si l'aspect ratio, le rapport largeur/ longueur, est égale ou inférieur à 0.25 on considèrera la particule comme étant

une fibre. En revanche si le ratio est supérieur à 0.25 la particule sera considérée comme étant un fragment. L'analyse de l'aspect ratio des particules permet de prendre connaissance de la forme des particules retenues préférentiellement par les huîtres. Dans l'ensemble des huîtres étudiées, et ce peu importe le lagon, nous avons noté que plus de 90 % des particules retrouvées dans les huîtres étaient des fragments (Figure 27). Cependant, aucune différence significative n'a été mise en évidences entre l'aspect des particules retrouvées dans les huîtres provenant des différents atolls.

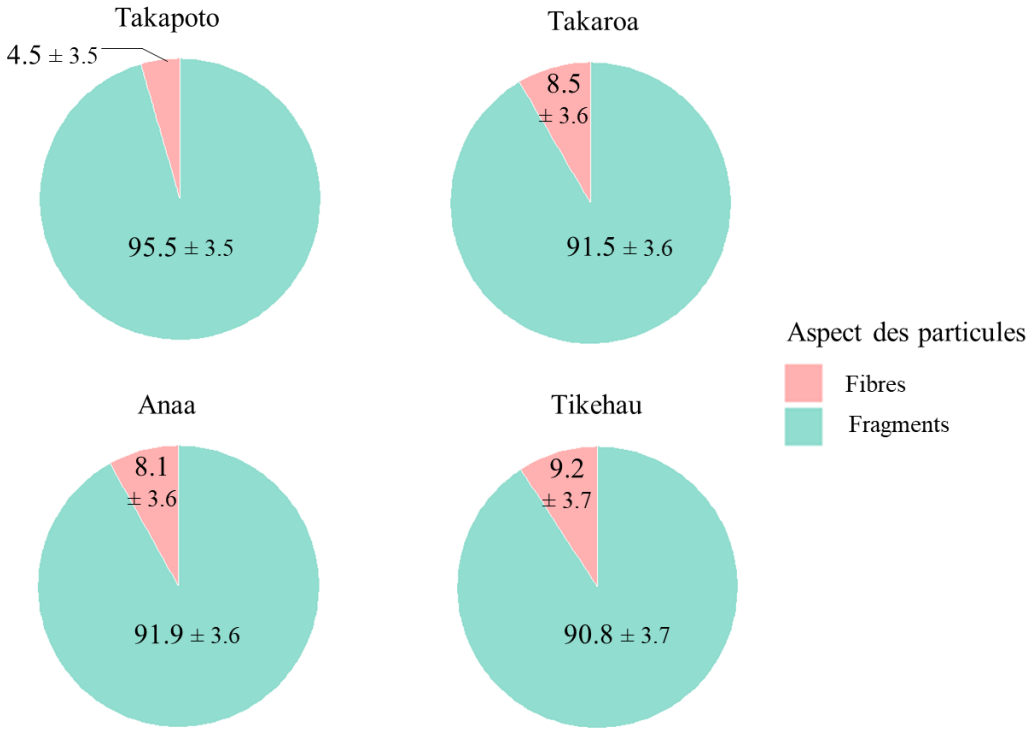


Figure 27. Pourcentages relatifs de la forme des particules retrouvées dans les huîtres *en fonction des différents atolls. (Takapoto : n = 2, Takaroa : n = 11, Anaa : n = 4 et Tikehau : n = 7).*

4.3.3.4 Caractérisation des différents polymères plastiques identifiés

Enfin, une caractérisation plus fine des particules appartenant à la catégories « plastique » retrouvé dans les huîtres échantillonnées a été effectuée. Neuf types de plastiques différents ont été mis en évidence. Le PE et le PP sont apparus comme les polymères plastiques dominants

identifiés dans les MPs (Figure 28). Ces résultats sont cohérents avec les données de l'OECD, qui indiquent que le PE et le PP sont les polymères les plus utilisés au niveau mondial (OECD, 2022). Concernant les quantités de MPs retrouvés par gramme de chair humide d'huître, nous avons observé de grande fluctuation entre les individus échantillonnés. Ainsi l'huître n°584 provenant de Takaroa correspond à celle dans laquelle nous avons trouvé la quantité la plus faible soit 0.05 MPs/g de chair humide. En revanche, au maximum nous avons identifié 14.2 MPs/g de chair humide pour l'huître n°874 venant de Anaa (Annexe 3). Malgrè ces différences quantitatives importantes, nous n'avons pas trouvé de différence significative de quantité de MPs entre les quatre atolls (Annexe 7).

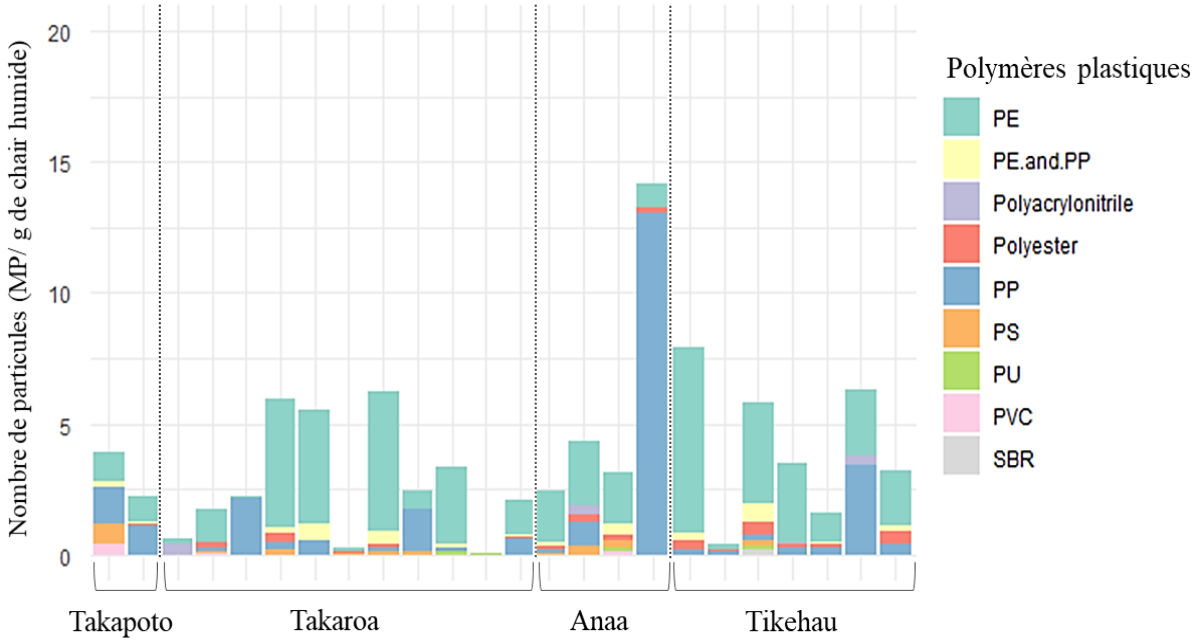


Figure 28. Caractérisation de la nature des différents polymères plastiques retrouvés dans les huîtres *(échantillonnées à t1 et t2) en fonction des différents atolls. Le nombre de particules est exprimé en gramme de chair humide.*

4.3.4 Quantification et qualification des microparticules retrouvées dans la colonne d'eau

Le même problème de contamination des échantillons témoins est survenu lors de l'analyse des échantillons d'eau. Ainsi, pour la colonne d'eau, sur les 12 sites, 7 ont été écartés de l'analyse pour les mêmes raisons. Seuls les échantillons d'eau des trois sites de Takaroa et des sites 1 et 3 de Tikehau ont pu être conservés (42 % des échantillons totaux). La suite des résultats est donc basée sur ces échantillons restants.

4.3.4.1 Propriétés générales des particules de la colonne d'eau

Après suppression des échantillons contaminés, seuls les échantillons des trois sites de Takaroa et des sites 1 et 3 de Tikehau étaient disponibles pour la caractérisation des particules de la colonne d'eau. Les autres échantillons d'eau ont dû être retirés de l'étude car suspectés d'avoir été contaminés lors de leur traitement en laboratoire. Concernant les échantillons d'eau restants, nous les avons analysés avec les mêmes catégories de nature de particules, de classes de tailles et d'aspect ratio que les échantillons d'huîtres précédemment évoqués. A Takaroa et Tikehau, les particules non identifiées représentaient là encore la part la plus importante. Les plastiques arrivent en seconde position du pourcentage relatif de particules identifiées, suivis de la cellulose, des pigments et de la calcite (Annexe 8).

Si l'on s'intéresse maintenant à la taille des particules présentes dans la colonne d'eau, la fraction la plus petite de « 50-100 » µm concerne près de la moitié des particules retrouvés (Figure 29). Puis nous avons identifié les particules entre « 100-150 » représentant près d'un quart du pourcentage relatif total, puis les « 150-200 » et les « 200-400 » dans des proportions équivalentes. La fraction de particules supérieures à 400 µm représentait 6 % ou moins des particules présentes dans nos échantillons.

La forme des particules à ces différents sites, était largement représentée à plus de 90% par des particules de type « fragment ».

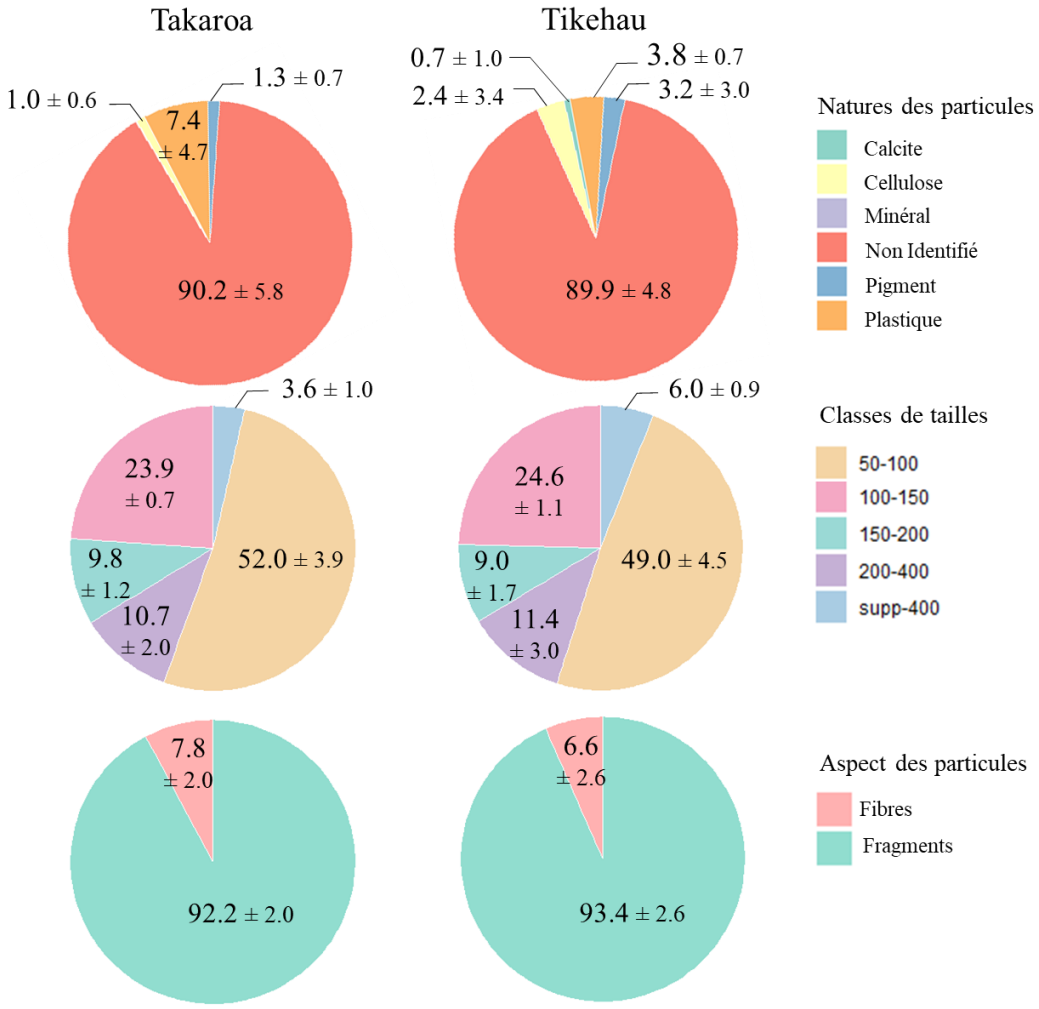


Figure 29. Informations sur les caractéristiques physiques des particules retrouvées dans les échantillons de la colonne d'eau *des sites à Takaroa et Tikehau (Takaroa : n = 3, Tikehau : n = 2).*

4.3.4.2 Caractérisation des différents polymères plastiques identifiés

En identifiant les différents polymères plastiques présents aux cinq sites échantillonnés, nous avons noté que la composition de la colonne d'eau en MPs variait grandement d'un site à l'autre. Pour l'atoll de Takaroa, au « site 1 » près de la moitié des MPs sont des PE, au « site 2 » le polymère majoritaire est le polyester et au « site 3 » celui le plus présent est le PU (polyuréthane). A Tikehau quel que soit le site, le PVC est le polymère plastique majoritaire (Figure 30) (Annexe 9).

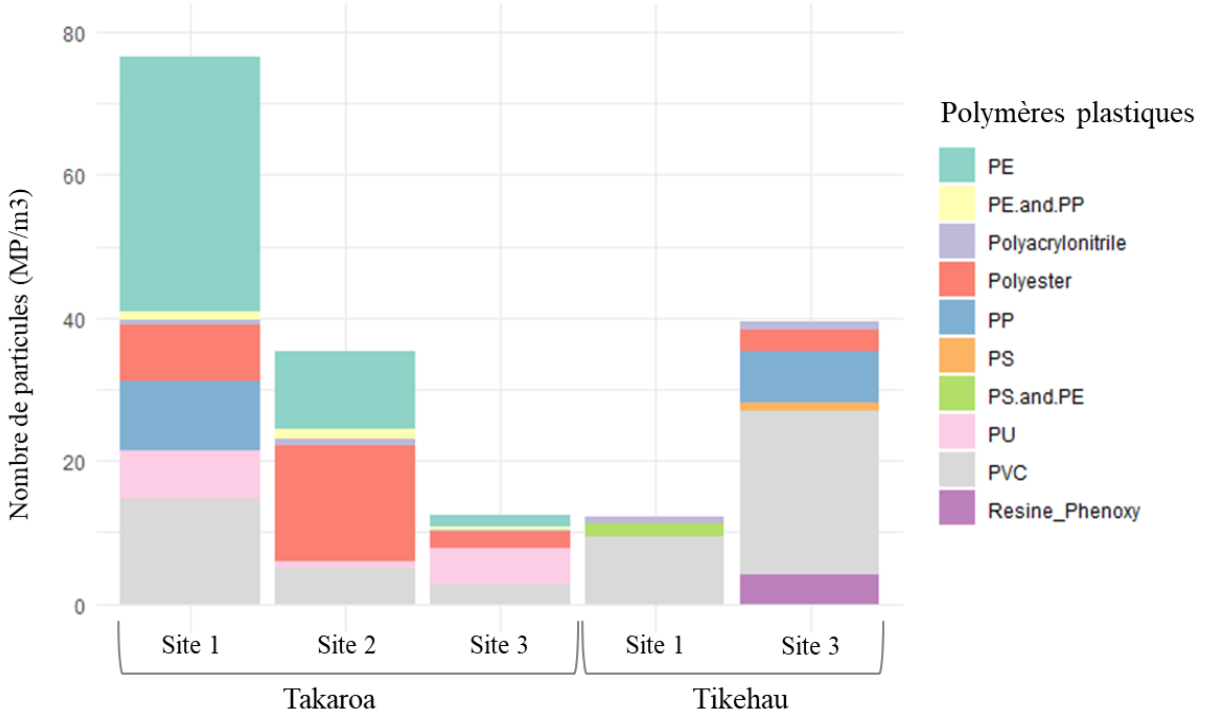


Figure 30. Caractérisation de la nature des différents polymères plastiques retrouvés dans la colonne d'eau *des trois sites de Takaroa et dans deux des trois sites à Tikehau. La quantité de MPs est exprimée en nombre de particules/m3.*

4.3.5 Comparaison de la contamination en microparticules des huîtres et de la colonne d'eau sur l'île de Takaroa

Afin de comparer de manière quantitative et qualitative les microparticules retrouvées dans les huîtres et dans la colonne d'eau, et compte tenu des problèmes de contamination explicités précédemment, seuls les échantillons d'huîtres prélevées en mars 2022 (t_2) provenant de Takaroa seront considérées pour la suite de cette analyse. Ainsi, deux huîtres étaient disponibles pour chacun des 3 sites de l'île.

4.3.5.1 Nature de l'ensemble des particules

Lorsque l'on compare la nature des particules retrouvées dans les huîtres et dans la colonne d'eau des différents sites de Takaroa, plusieurs différences sont perceptibles. Tout d'abord, seuls les échantillons d'huîtres contiennent des fragments de calcite. Les pourcentages de particules de celluloses et de plastiques sont supérieurs dans les huîtres comparés à ceux de la colonne d'eau (Figure 31). On note un taux d'enrichissement de l'ordre de 6.5 pour la cellulose et de 4.5 fois plus de particules de plastiques dans les huîtres par comparaison aux pourcentages de particules obtenus dans la colonne d'eau. Les huîtres semblent donc concentrer certaines particules par rapport aux proportions retrouvées dans le milieu environnant.

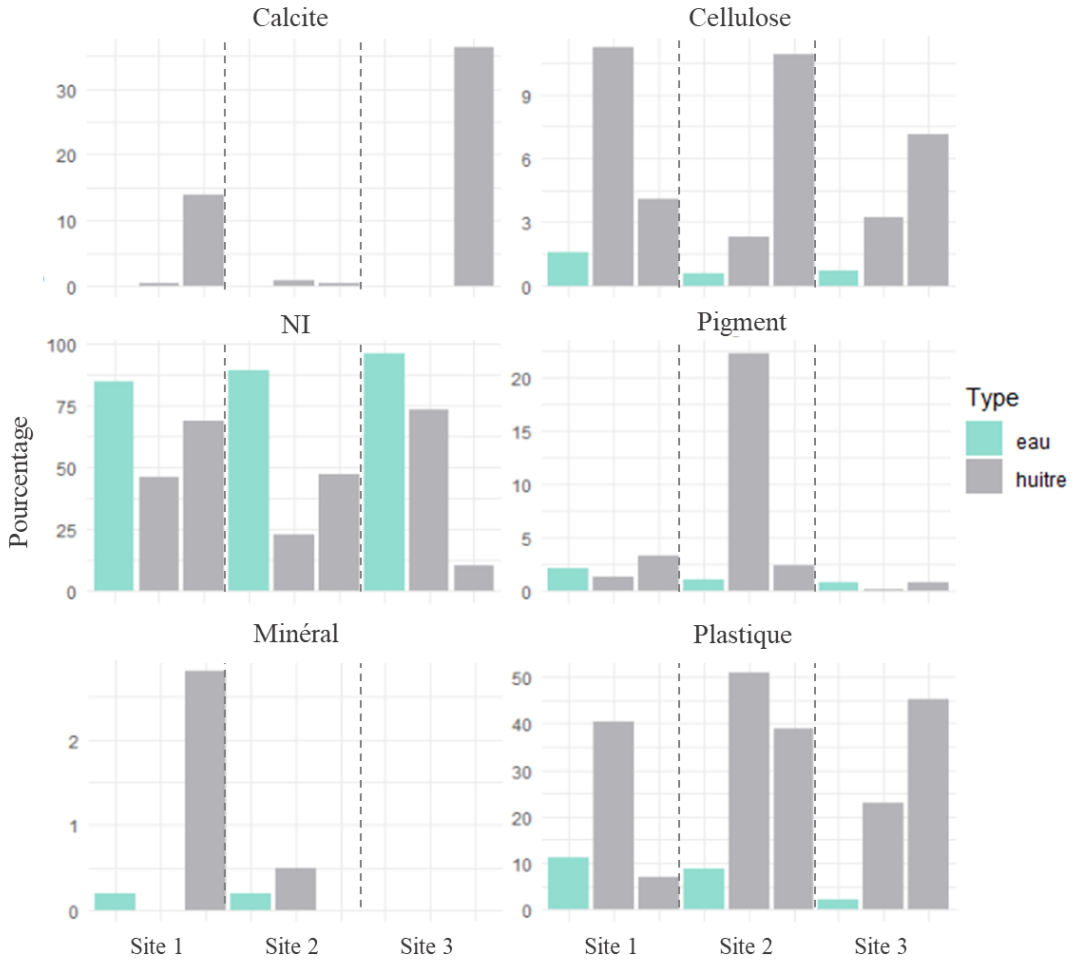


Figure 31. Comparaison de la nature des particules identifiées dans les huîtres et dans la colonne d'eau *des trois sites de l'atoll de Takaroa en mars 2022 (t2). Les comptages sont rapportés par gramme de chair humide pour les échantillons d'huîtres et par mètre cube (m^3) pour les prélèvements d'eau puis exprimés en pourcentage relatif selon la nature des particules. Chaque barre représente un échantillon d'huître (en gris) ou un échantillon de la colonne d'eau (en turquoise).*

4.3.5.2 Taille

Concernant la taille des particules, les pourcentages de chaque classe de taille de particules semblent relativement homogènes entre les particules retrouvées dans les huîtres et celles identifiées dans l'eau du site (Figure 32).

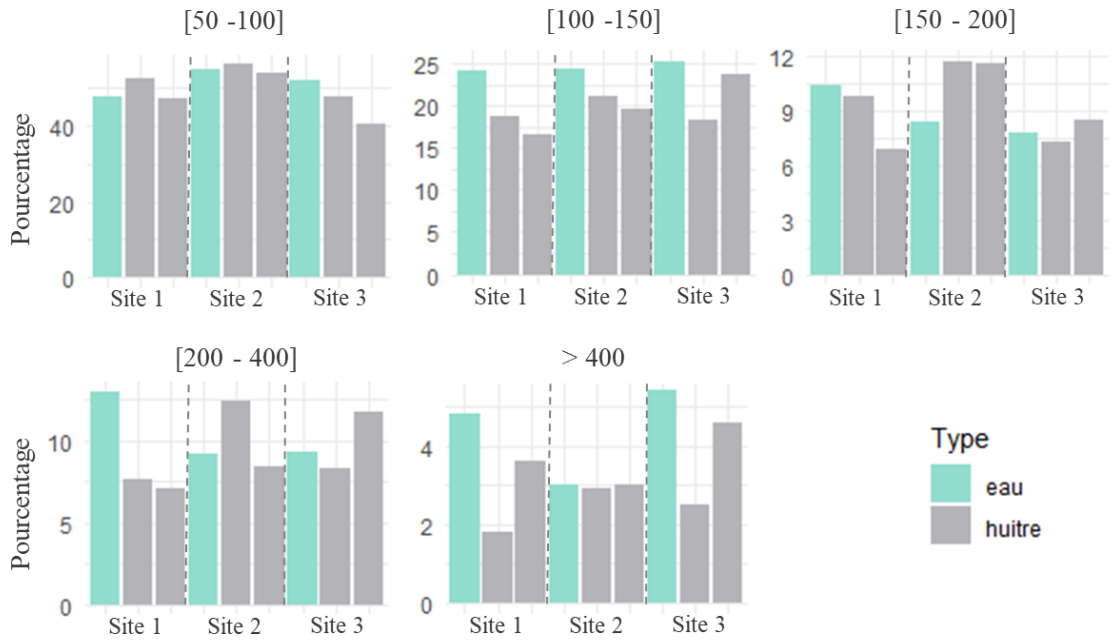


Figure 32. Comparaison de la taille des particules identifiées dans les huîtres et dans la colonne d'eau *des trois sites de l'atoll de Takaroa au temps 2. Les comptages sont rapportés par gramme de chair humide pour les échantillons d'huîtres et par* m^3 *pour les prélèvements d'eau puis exprimés en pourcentage relatif selon la nature des particules. Chaque barre représente un échantillon d'huître (en gris) ou un échantillon de la colonne d'eau (en turquoise).*

4.3.5.3 Forme

Dans les huîtres comme dans les prélèvements de la colonne d'eau, plus de 75 % des particules avaient un aspect ratio supérieur à 0.25 et correspondaient donc à des fragments. Il n'y a pas de différence significative entre les pourcentages de fragments et de fibres retrouvés aux différents sites dans l'eau et dans les huîtres (Figure 33).

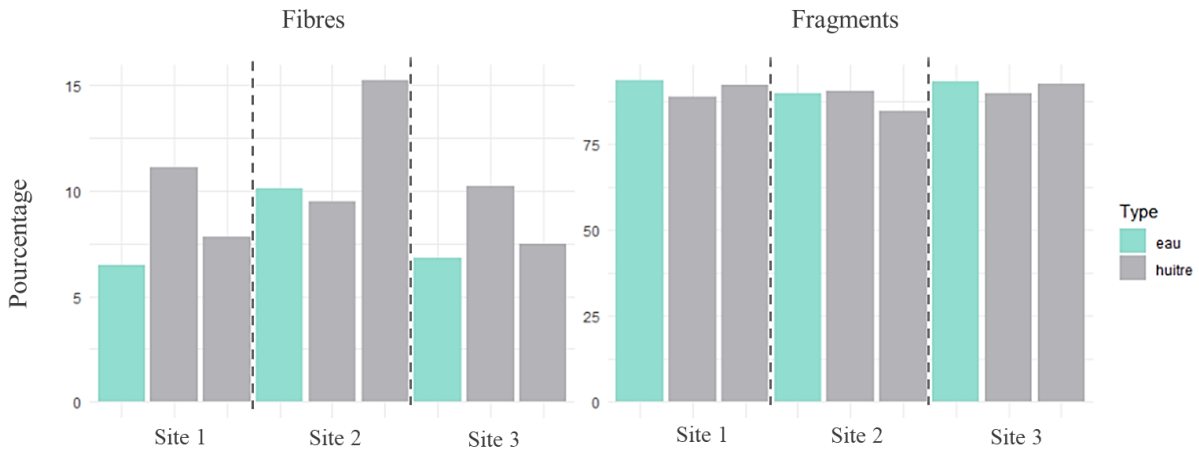


Figure 33. Comparaison de la forme des particules identifiées dans les huîtres et dans la colonne d'eau *des trois sites de l'atoll de Takaroa au temps 2. Les comptages sont rapportés par gramme de chair humide pour les échantillons d'huîtres et par* m^3 *pour les prélèvements d'eau puis exprimés en pourcentage relatif selon la forme des particules. Chaque barre représente un échantillon d'huître (en gris) ou un échantillon de la colonne d'eau (en turquoise).*

4.3.5.4 Polymères plastiques

L'analyse des pourcentages de polymères plastiques, en fonction du type d'échantillons (colonne d'eau ou huître) provenant des trois sites de Takaroa, a permis de mettre en évidence quelques différences majeures. Certains polymères étaient identifiés dans un seul des deux types d'échantillons pour un même site donné. C'est le cas des copolymères de PE et de PP qui ont été relevés dans la colonne d'eau au site 1 de Takaroa mais dans aucune des deux huîtres de ce site. De façon similaire, le PVC a été retrouvé seulement dans une huître sur le site 1 et seulement dans la colonne d'eau sur site 3. La présence de polyacrylonitrile a été notée dans tous les échantillons d'eau mais seulement dans une seule huître du site 1. En ce qui concerne le polyester et polyuréthane (PU), des particules de polyester étaient systématiquement relevées dans les échantillons d'eau mais seulement dans trois des six huîtres échantillonnées et dans une des six huîtres pour le PU. Inversement, toutes les huîtres prélevées présentaient du PP, mais ce polymère a été retrouvé dans seulement un échantillon d'eau correspondant au site 1 de Takaroa (Figure 34). Enfin des particules de polystyrène (PS) étaient présentes en grande quantité dans l'eau du site 1 et 2 mais seulement dans une huître du site 1 et à un faible pourcentage (3 %).

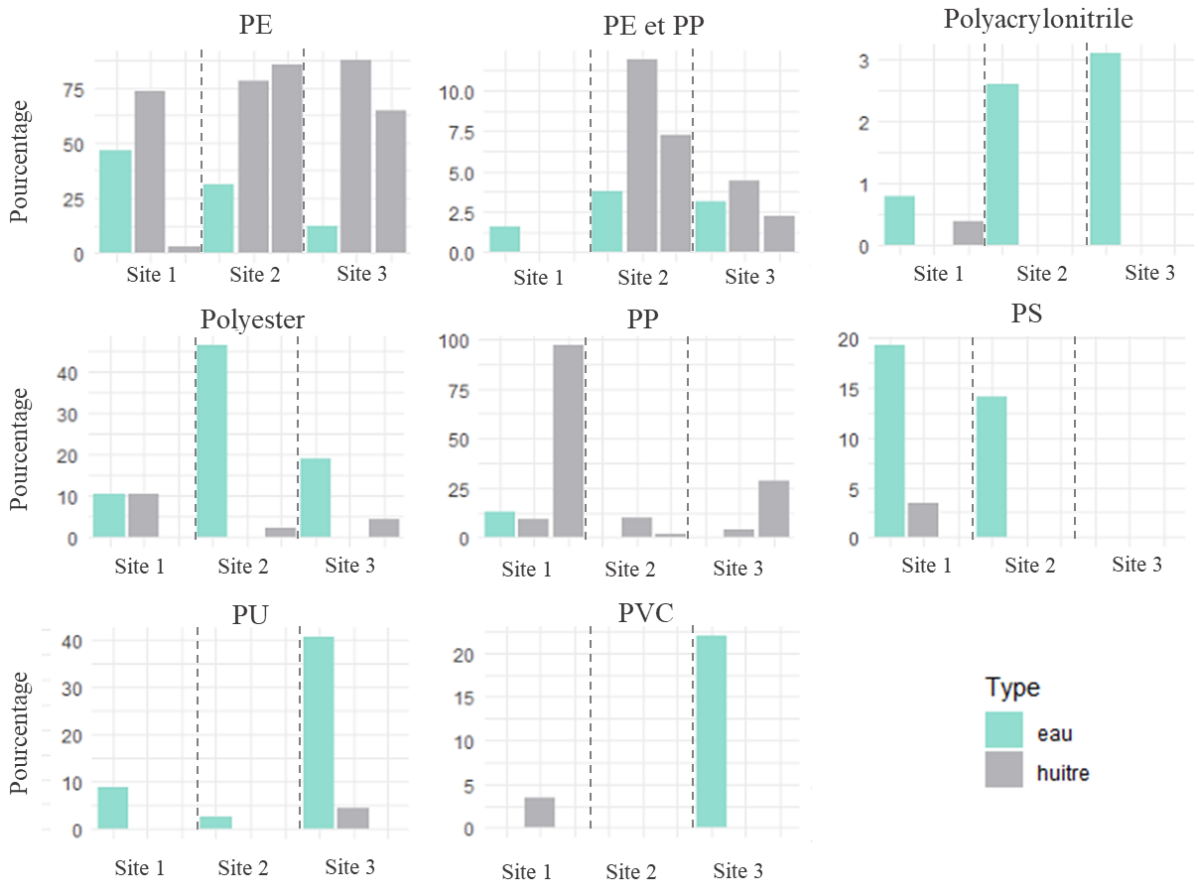


Figure 34. Comparaison des polymères de plastique identifiées dans les huîtres et dans la colonne d'eau *des trois sites de l'atoll de Takaroa au temps 2. Les comptages sont rapportés par gramme de chair humide pour les échantillons d'huîtres et par m^3 pour les prélèvements d'eau puis exprimés en pourcentage relatif selon la nature des particules. Chaque barre représente un échantillon d'huître (en gris) ou un échantillon de la colonne d'eau (en turquoise).*

4.3.5.5 Corrélation entre la quantité de MPs retrouvés dans les huîtres et dans l'eau

Afin d'explorer la corrélation entre la quantité de microplastiques retrouvée dans l'eau et dans les huîtres perlières nous avons dû procéder par étape. Tout d'abord le poids sec de ces individus a pu être déterminé à partir de leur poids humide grâce à un coefficient de corrélation

estimé à 5.44 entre le poids humide et sec des chairs de *Pinctada margaritifera* (Résultat provenant du stage de master au CIP d'Ambre Garnier, 2024). A partir de ce poids sec il est ensuite possible de calculer le volume horaire et journalier d'eau filtrée par ces individus grâce au coefficient de filtration évalué pour cette espèce à 25.88 L.h-1.g-1 de poids sec par Pouvreau et al., (1999) (Tableau 8).

Pour remonter à la quantité totale de MPs par huîtres, le nombre de MPs par gramme de chair est multiplié par le poids total de l'animal. D'autre part, le volume d'eau journalièrement filtré calculé pour chaque huître est multiplié par la quantité de MPs retrouvée par m^3 au site correspondant de chaque huître. Puis une corrélation de Pearson est opérée entre la quantité de microparticules de plastiques retrouvée dans les chairs d'huître et celle calculée à partir de la contamination de l'eau des sites et du volume journalier filtré par individus. La valeur du coefficient obtenu est de 0.017 ce qui indique une corrélation très faible entre la quantité de microplastiques dans les huîtres et celle dans l'eau environnante. La p-value associée est de 0.97. Ainsi, il n'y a pas de corrélation significative entre la quantité de microplastiques retrouvée dans les huîtres et celle présente dans l'eau environnante sur les différents sites étudiés pour les échantillons analysés.

Table 8. Calculs des volumes d'eau filtrés par huîtres.

Ile	Site	Identification huitre	Poids humide (g)	Estimation du poids sec (g)	Estimation volume journalier filtré (en L)	Quantité de MP.m^3 d'eau	Quantité de MP.m3 d'eau filtrée quotidennement	Quantité de MP.animal
Takaroa	1	363	31.4	5.8	3585	76.4	273.9	56.5
Takaroa	1	394	42.1	7.7	4807	76.4	367.3	96.8
Takaroa	2	442	16.13	3	1842	35.3	65.0	88.7
Takaroa	2	473	17.81	3.3	2033	35.3	71.8	110.4
Takaroa	3	553	24.98	4.6	2852	12.3	35.1	82.4
Takaroa	3	587	26.15	4.8	2986	12.3	36.7	54.9

4.3.6 Etude de la corrélation des paramètres biotiques et abiotiques

4.3.6.1 Influence des facteurs environnementaux sur les indices de conditions des huîtres

Précédemment, nous avons pu mettre en évidence des différences significatives des indices de condition des huîtres en fonction de leur lieu d'élevage (Figures 23 et 24). Dans le but d'examiner l'influence des variables environnementales sur ces proxys de la condition des huîtres, les données de chlorophylle et de température enregistrées par les sondes SAMBAT et les thermo-boutons ont été récupérées à chacun des sites de l'étude. Nous avons ensuite moyenné ces données horaires à chaque site pour les deux périodes de temps considérées : t_1 du 02/09/21 au 31/11/2021 et t_2 du 01/12/21 au 01/03/2022. Nous avons également calculé l'écart type de ces deux variables pendant ces mêmes périodes. Nous les avons nommées « SD_T » et « SD_Chloro » et ajoutées au jeu de données.

Comme première analyse exploratoire nous avons réalisé une analyse en composantes principales (ACP) afin d'examiner l'influence des variables environnementales sur les taux de croissance (TC) et la concentration en glycogène musculaire (Glyco) des huîtres échantillonnées à deux périodes différentes dans les quatre îles sélectionnées (Figure 35). Les périodes d'échantillonnage sont indiquées par les suffixes 1 et 2 après le nom de chaque île. Les variables environnementales considérées incluent la température moyenne (T_moy), l'écart type de la température (SD_T), la concentration en chlorophylle (Chloro_moy), et l'écart type de la chlorophylle (SD_chloro). L'ACP réalisée explique 47.3 % de la variance totale des données par la première dimension (Dim1) et 21.3 % par la deuxième dimension (Dim2), soit un total de 68.6 % (Figure 35). Cette variance capturée par les deux premières dimensions est significative et permet une interprétation approfondie des relations entre les variables et les groupes d'échantillons.

La dimension 1 semble être fortement influencée par les variables environnementales, notamment la température et la concentration en chlorophylle mais influencé négativement par le taux de croissance et la variation de la température (SD_T), comme indiqué par la longueur

et la direction des flèches associées à ces variables. De plus la dimension 1 semble intégrer une variance supplémentaire liée aux variations spécifiques des groupes entre les périodes d'échantillonnage. En effet, le long de cet axe sont différenciés à gauche les groupes d'huîtres échantillonnées à t_1 et à droite celles prélevées à t_2.

Pour la dimension 2, se sont principalement les variables de concentration en glycogène et la variabilité de la chlorophylle du milieu qui contribuent de manière importante à cette dimension. En outre, cette dimension discrimine les groupes de Anaa et Tikehau situés dans la partie haute du graphique des groupes de Takapoto et Takaroa dans la partie basse. Les huîtres de Anaa et de Tikehau semblent donc être caractérisées par des concentrations en glycogène musculaires plus élevées comparé aux huîtres de Takapoto et de Takaroa.

En conclusion, cette ACP révèle que les conditions environnementales, principalement la température moyenne et la concentration moyenne en chlorophylle, jouent un rôle déterminant dans la croissance et l'accumulation de réserves en glycogène des huîtres. Les atolls de Anaa et de Tikehau semblent offrir des conditions plus propices par rapport aux atolls de Takapoto et Takaroa. Des différences significatives entre les paramètres « Température » et « Chlorophylle » ont pu être mise en évidence entre ces atolls (Annexes 10 et 11). Toutefois, l'ACP suppose des relations linéaires entre les variables. Si les relations entre les indices de condition physiologique et les conditions environnementales sont non linéaires, l'ACP pourrait ne pas capturer toute la complexité des interactions

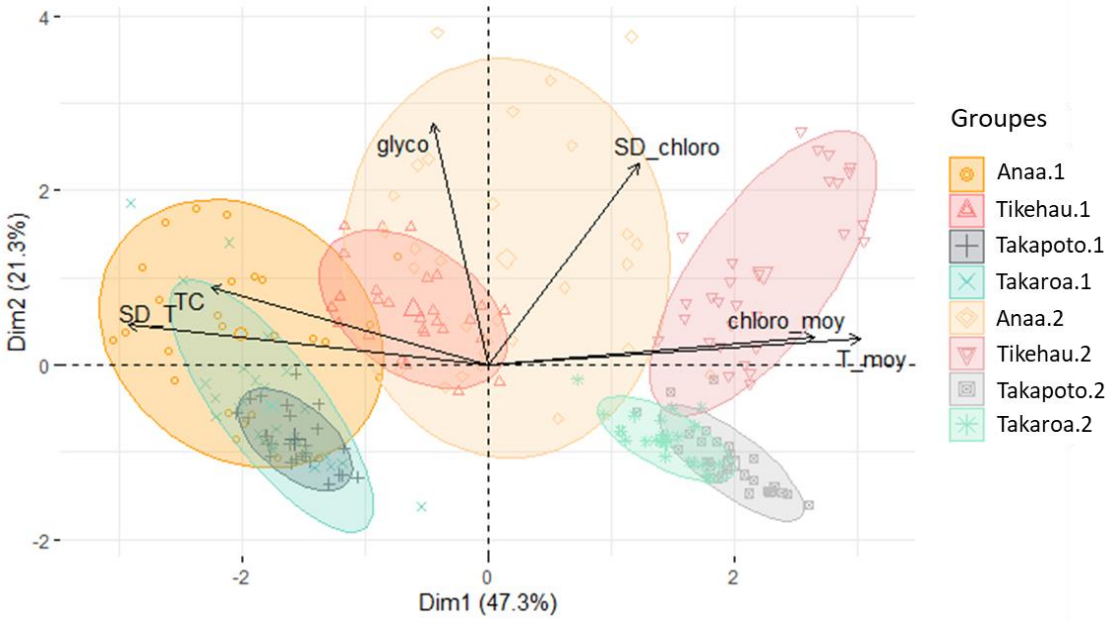


Figure 35. Analyse en composantes principales des principales variables environnementales mesurées lors de la mission « Huîtres Sentinelles ». *Représentation des Dim1 et Dim2 de l'ACP réalisée sur les variables environnementales et les indices de condition des huîtres échantillonnées à deux périodes (1 et 2) différentes dans les quatre îles de la mission « Huîtres Sentinelles » : Anaa, Tikehau, Takapoto et Takaroa.*

Afin de connaitre la contribution spécifique des facteurs environnementaux aux différences observées, nous avons réalisé des corrélations de Pearson entre les données environnementales et le taux de croissance et la concentration en glycogène musculaire des huîtres, selon un mode de régression linéaire. Le test de corrélation entre les indices de condition des huîtres et les paramètres environnementaux nous ont informé de l'existence de plusieurs niveaux de corrélation entre ces différentes variables. Pour le taux de croissance (TC) on note une corrélation négative forte avec la température (-0.5), une corrélation positive forte avec l'écart type de la température (0.53) ainsi qu'une corrélation modérée avec la concentration en chlorophylle du milieu (-0.33). Le glycogène est lui faiblement corrélé avec l'écart type de la température (0.19) et l'écart type de la chlorophylle (0.24) (Figure 36). Après étude de la significativité de ces corrélations, on remarque que les cinq indices de corrélations correspondants, compris entre 0.19 et 0.53 en valeur absolue, sont hautement significatifs ($p < 0.01$) (Annexe 12).

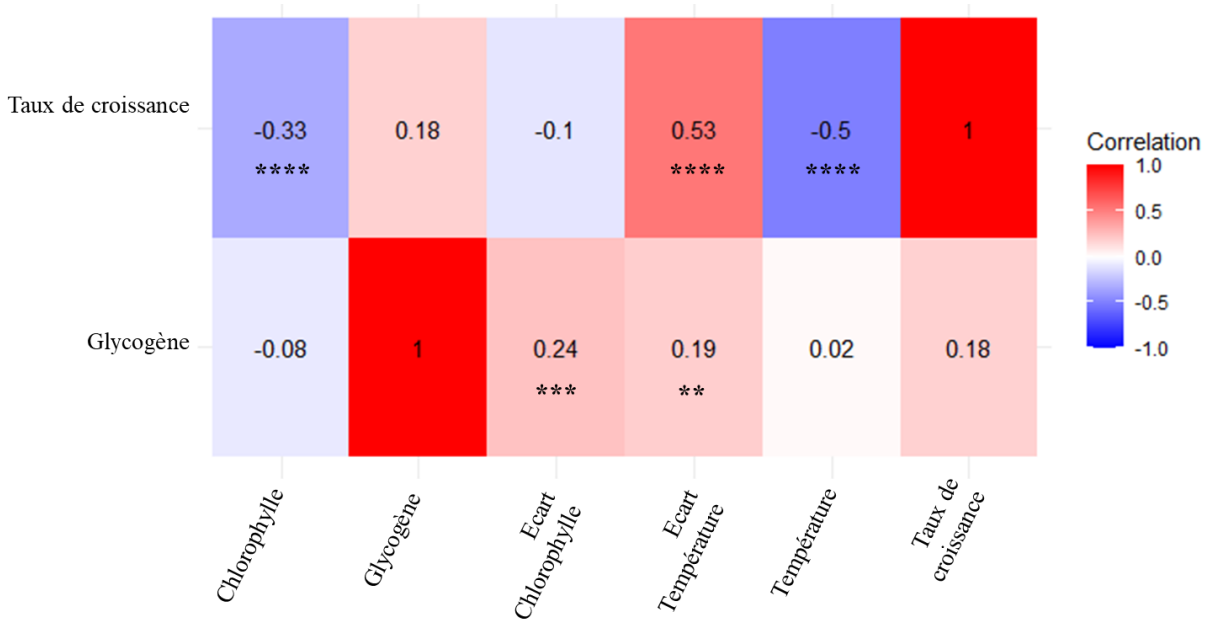


Figure 36. Carte de chaleur de la corrélation entre les indices de conditions des huîtres et les paramètres environnementaux mesurés lors de la mission « Huîtres Sentinelles*, P-value < 0.01 = **, P-value < 0.001 = ***, P-value < 0.0001 = ****.*

S'agissant des cinq corrélations significatives précédemment mises en évidence, des modèles non linéaires ont également été testés afin de chercher à mieux ajuster les relations entre les variables. Seuls les modèles avec le meilleur ajustement (évalué en fonction du coefficient de détermination ajusté R^2) sont présentés ci-dessous avec la significativité statistique (p-value) associée à chaque régression (Figure 37). L'utilisation d'un modèle quadratique a permis d'expliquer une plus grande proportion de la variance observée pour quatre des cinq relations considérées. En revanche, seul un meilleur ajustement suivant un modèle linéaire a été observé pour la relation entre le taux de croissance et l'écart type de la température (R^2 = 0.279 contre R^2 = 0.277 pour un modèle quadratique).

La température montre une relation quadratique avec le taux de croissance (TC) des huîtres. Les valeurs extrêmes, à la fois faibles et élevées, sont associées à une diminution du TC (parabole en forme de cloche). Le coefficient de détermination ajusté R^2 indique que la température contribue à hauteur de 29 % aux variations observées du TC (p-value = 2.2×10^{-16}).

L'écart-type de la température (SD-T) influence positivement le TC : plus la variabilité de la température est élevée, plus le TC augmente selon une relation linéaire. SD-T contribue à 28 % des variations du TC (p-value = $2.2x10^{-16}$). Une relation quadratique est également visible entre le TC et la concentration en chlorophylle de la colonne d'eau. Là encore, les valeurs extrêmes entraînent une diminution du TC. La concentration en chlorophylle explique 26 % de la variation du TC (p-value = $4.7x10^{-6}$).

La concentration en glycogène musculaire est influencée significativement par deux paramètres : SD-T et SD-Chloro. Dans les deux cas, une relation quadratique a été observée. Les valeurs extrêmes de ces paramètres (faibles ou élevées) sont associées à une réduction de la concentration en glycogène. Le SD-T explique 18 % de la variation de la concentration en glycogène (p-value = $6.6x10^{-11}$), tandis que SD-Chloro en explique 14 % (p-value = 0.001).

L'analyse des relations entre les indices de condition et les paramètres environnementaux a permis d'expliquer en partie la variabilité du taux de croissance et de la concentration en glycogène musculaire. Cependant, il est probable que d'autres facteurs, non pris en compte dans cette étude, contribuent également à la variabilité observée pour ces indices de condition.

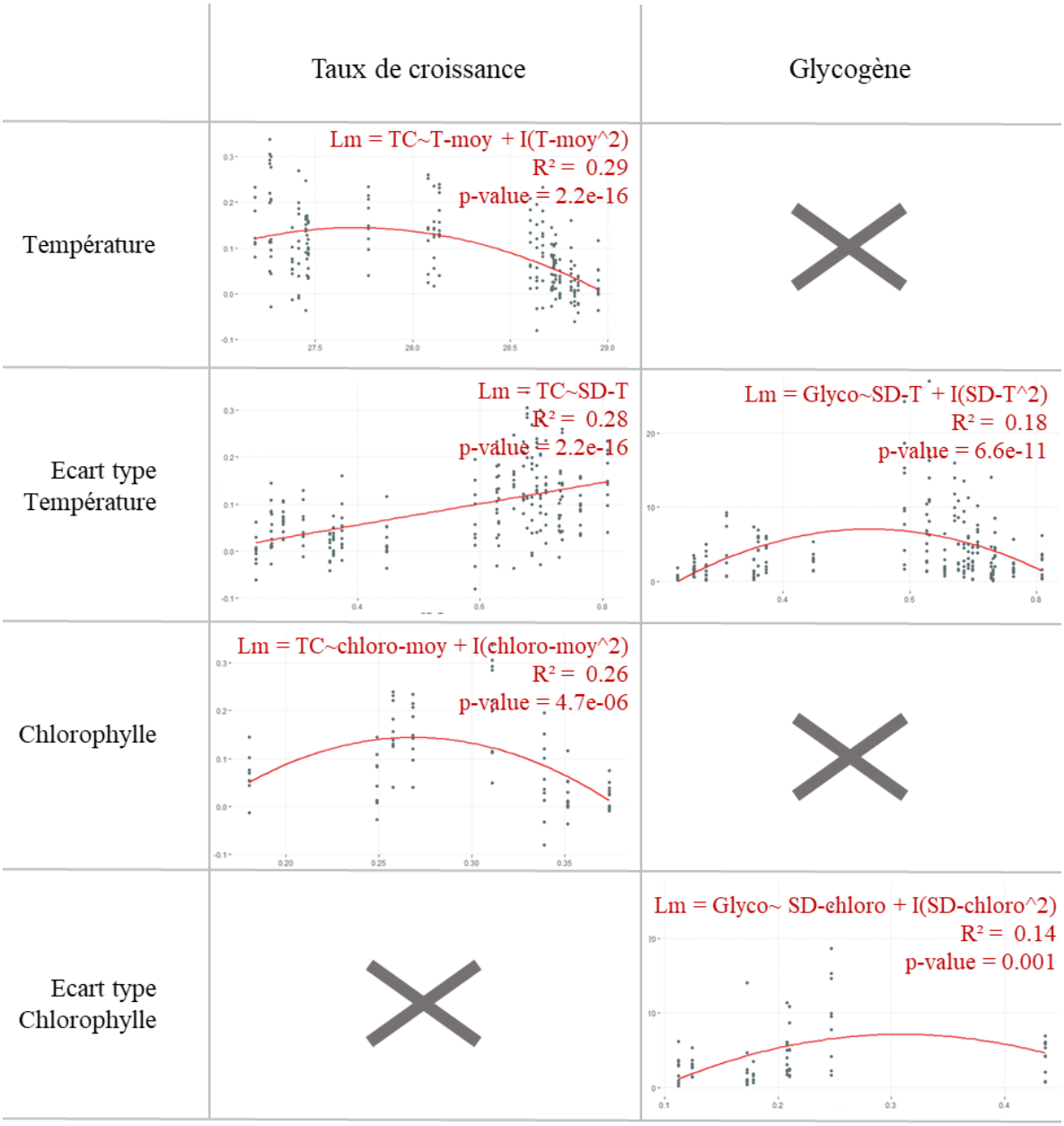


Figure 37. Résultats des régressions réalisées entre les indices de condition des huîtres et les paramètres environnementaux.

4.3.6.2 Corrélation entre le taux de croissance des huîtres et la nature des particules retrouvées dans les huîtres

Les variables environnementales n'expliquant pas l'entièreté de la variation observée, nous nous sommes ensuite intéressés à l'influence de la contamination des chairs d'huîtres en particules sur les indices de conditions des huîtres. Cependant, seules les corrélations entre le taux de croissance (TC) des huîtres et les particules ont été réalisées. En effet, nous n'avons pas réalisé de mesure de la concentration du glycogène sur les huîtres ayant servi à la quantification des particules. Cela aurait impliqué de prélever un morceau du muscle de ces huîtres or nous voulions quantifier la contamination en particules exogènes sur l'entièreté de l'animal. Ces deux mesures n'étaient donc pas compatibles.

L'analyse des coefficients de corrélation entre le TC et les différentes natures des particules identifiées dans les chairs des animaux en suivant un modèle linéaire montre qu'il y a une corrélation modérée estimée à -0.44 entre le TC et la quantité de particules de cellulose retrouvées par gramme de chair de ces mêmes individus. Les autres types de particules (minéraux, plastiques, pigments, etc.) montrent des corrélations faibles, avec des coefficients compris entre 0.1 et 0.3. La calcite, avec un coefficient de -0.06, est très faiblement corrélée avec le TC (Tableau 9). Les tests de significativité montrent que seule la corrélation entre le TC et la quantité de cellulose dans les chairs d'huîtres est significative (p-value = 0.03, Tableau 9).

Table 9. Coefficients de corrélation de Pearson et significativité des corrélations entre le Taux de croissance (TC) et les différentes natures de particules retrouvées par gramme de chair humide.

Variable	Corrélation avec TC	p-value
Calcite	-0.0557	0.7961
Cellulose	-0.4423	0.0305
Mineral	0.1344	0.5311
Plastiques	-0.2413	0.2561
Pigment	-0.1090	0.6120
NI	0.2447	0.2491

Afin de comprendre l'ampleur et la direction de cette corrélation entre le taux de croissance et la quantité de cellulose, nous avons réalisé une régression linéaire (Figure 38). Grace à l'allure de cette droite d'équation, nous concluons que l'augmentation de la quantité de particule de cellulose dans les chairs d'huître entraine une diminution du taux de croissance de ces animaux. Plus précisément, lorsque la quantité de cellulose passe de 0 à 1.6 gramme par chair d'huître, le taux de croissance passe de 0.12 à -0.08, ce qui montre une réduction significative. Une augmentation de la concentration d'une particule de cellulose par gramme de chair humide diminuerait le TC de 12.5 % comme nous l'indique la valeur de la pente de l'équation.

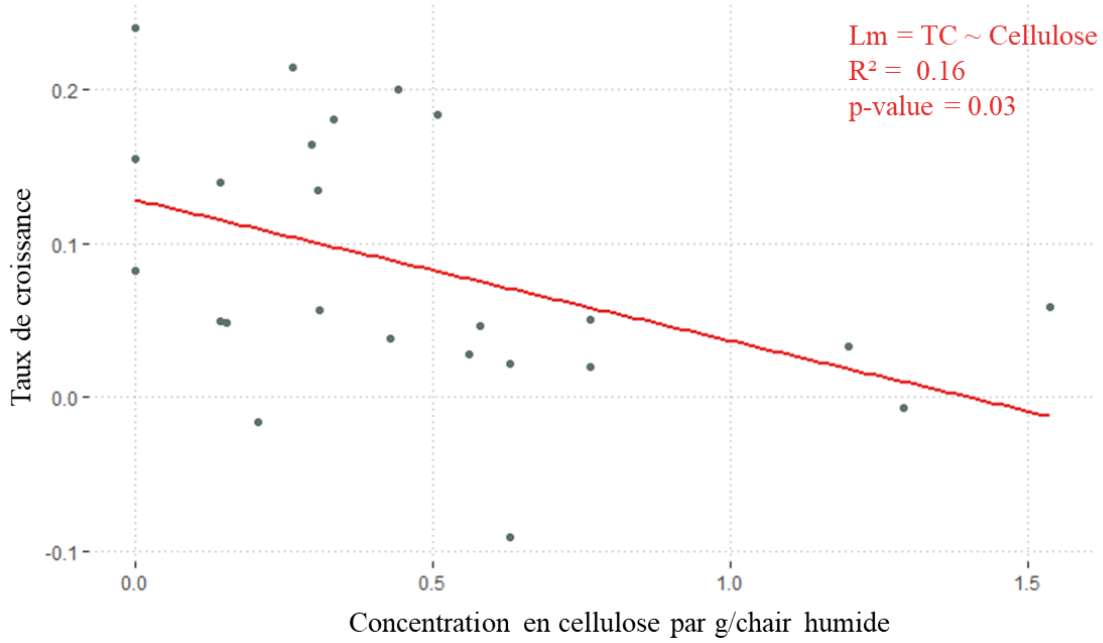


Figure 38. Régression linéaire entre le taux de croissance individuel des huîtres et la concentration de particules de cellulose *en gramme de chair retrouvées chez ces mêmes individus.*

4.3.6.3 Corrélation entre le taux de croissance des huîtres et les différents types de polymères

Une fois la cellulose identifiée parmi les particules naturelles comme impactant négativement le TC des huîtres, nous avons voulu cette fois ci savoir si les différents types de polymères plastiques identifiés pouvaient eux aussi avoir une influence significative. Nous

avons donc créé des matrices de corrélation entre la quantité en gramme par chair d'huître des différents polymères plastiques et le TC des animaux. Après avoir étudié la significativité de ces corrélations, nous en avons conclu qu'aucune d'entre elles n'était significative (Tableau 10). Ainsi pour les huîtres étudiées au cours de cette étude, la quantité de plastique retrouvé dans leurs tissus n'a pas induit une augmentation ou une diminution du taux de croissance de ces animaux.

Table 10. Coefficients de corrélation et significativité des corrélations entre le taux de croissance (TC) et les différents polymères retrouvés par gramme de chair humide d'huître *(n = 24).*

Polymère	Corrélation avec TC	p-value
PE	-0.3017522	0.1518529
PE.and.PP	-0.2173493	0.3076291
PP	-0.1553384	0.4685795
Polyacrylonitrile	0.2900447	0.1691823
Polyester	0.0263968	0.9025546
PU	-0.2101465	0.3243252
PS	0.1244381	0.5623628
PVC	0.1952691	0.3605080
SBR	-0.1315031	0.5402012
xPA6	0.2919289	0.1663042
Somme	-0.3076874	0.1435651

4.4 DISCUSSION

A travers ce suivi *in situ* à long terme de 1 200 huîtres perlières, *Pinctada margaritifera*, déployées dans quatre atolls de l'archipel de Tuamotu en Polynésie française, nous avons pu mettre en évidence des différences significatives concernant les indices de condition suivis chez ces animaux. Grace à ces observations et à la lumière de travaux scientifiques rapportés dans la littérature, nous avons pu émettre quelques hypothèses.

4.4.1 Différences des indices de conditions des huîtres en fonction du temps

Située dans l'hémisphère sud en plein cœur du Pacifique, la Polynésie française est bercée par un climat tropical humide. On distingue deux grandes saisons au cours de l'année. De mai à octobre la saison est dite « fraiche » et coïncide avec une humidité moindre et des températures plus basses que la moyenne annuelle. Puis l'été austral prend place de novembre à avril et s'accompagne de températures plus importantes et d'une humidité élevée due à des précipitations importantes lors de cette période (Climat de la Polynésie française). Cette dichotomie annuelle modifie les paramètres environnementaux et rythme la vie des organismes terrestres et marins. Deux stratégies sont alors envisageables. Les animaux peuvent entamer des migrations afin de trouver les conditions environnementales optimales pour leur cycle de vie à l'instar des baleines à bosses qui reviennent chaque année « en-chanter » les eaux maories et naviguent au gré des océans (Gannier, 2005). Ou bien les organismes inféodés à un lieu doivent adapter et optimiser leur métabolisme aux changements environnementaux (Foo & Byrne, 2016).

Ayant des capacités motrices limitées, les huîtres font parties du deuxième cas de figure. Ces organismes poïkilothermes sont donc dépendants de la température de leur environnement pour la régulation de leur température interne. Chez ces organismes, la température est le facteur externe le plus important pour la régulation de leur métabolisme (Mao et al., 2006). Des variations de ce paramètre entraînent des modifications du taux de consommation d'oxygène, du taux de filtration et de l'excrétion d'azote chez les organismes poïkilothermes (Huang & Newell, 2002). Ainsi pour chaque espèce il est possible de déterminer un optimal thermique en fonction des différentes phases de son cycle de vie. Le métabolisme énergétique, l'ingestion, la consommation d'oxygène et le taux de croissance d'huîtres *P. margaritifera*, ont été mesurés sous différentes températures : 22, 26, 30 et 34 °C (Le Moullac et al., 2016) afin de déterminer l'optimal thermique des principales fonctions de cette huître tropicale. L'optimum pour la biominéralisation est évalué entre 21.5 et 26.5 °C, alors que l'optimum thermique pour la croissance somatique et la reproduction se situe aux alentours de 28.7 °C. En dehors de ces gammes d'optimum thermiques, le métabolisme des huîtres est très fortement affecté à la température de 34°C du fait d'un quasi arrêt de la prise alimentaire (Le Moullac et al., 2016). Aux vues de ces résultats, la croissance des huîtres de l'espèce *P. margaritifera* semble être

maximale en saison froide. Les taux de croissance mesurés sur les groupes d'huîtres suivies dans la présente étude confirment cette observation. En effet les taux de croissance étaient supérieurs pour l'ensemble des atolls lors de la période froide d'exposition des huîtres, d'août à novembre, et étaient fortement diminués en saison chaude de décembre à mars.

C'est également pendant la saison froide que l'huître constitue ses réserves énergétiques sous forme de glycogène. Chez cette espèce la reproduction est quasiment continue avec une activité accrue en saison chaude de novembre à mai. La gamétogénèse implique une production élevée de spermatozoïdes ou d'ovocytes qui peut ainsi être supportée par les réserves de glycogène stockées (Chávez-Villalba et al., 2013). En période de forte activité de reproduction, on observe donc une diminution des réserves énergétiques. Les huîtres échantillonnées à Takapoto, Takaroa, Anaa et Tikehau en novembre possédaient des réserves énergétiques supérieures aux huîtres échantillonnées dans ces mêmes atolls en mars. Ces résultats obtenus lors de la mission d'huîtres sentinelles laissent donc penser que la diminution des réserves énergétiques enregistrée chez ces individus serait due au cycle biologique normal de reproduction.

4.4.2 Différences des indices de conditions des huîtres en fonction des sites

Concernant les différences des indices de conditions observées entre les atolls pour une même période donnée, plusieurs hypothèses peuvent être avancées. Une étude de terrain réalisée entre 1994 et 1999 sur la comparaison de la croissance des huîtres perlières dans neuf sites différents en Polynésie française, avait également montré des écarts significatifs entre les atolls (Pouvreau & Prasil, 2001). Parmi ces sites choisis, deux correspondaient à des îles hautes, un à l'océan ouvert (situé à l'extérieur du lagon de Takapoto) et six à des atolls dont Takapoto et Takaroa faisaient partie. En classant les taux de croissance des huîtres en fonction de ces sites, les auteurs ont remarqué que les taux de croissance les plus hauts correspondaient à l'océan ouvert et aux îles hautes. L'atoll où les huîtres avaient enregistré une croissance la plus faible était Takapoto. Les auteurs ont alors mis en cause les températures extrêmes supérieures à 30 °C enregistrées dans certains atolls qui diminueraient la croissance des huîtres en augmentant le niveau basal de leur métabolisme (Pouvreau & Prasil, 2001). Dans l'étude de Pouvreau & Prasil, une autre différence a été observée entre les sites : le taux de renouvellement

de l'eau. Les eaux tropicales polynésiennes sont oligotrophes et donc pauvres en matière organique particulaire. Cependant, les sites où le courant est important, favorisent le renouvellement de l'eau en matière organique particulaire, permettant aux huîtres de meilleurs taux de croissance (Pouvreau & Prasil, 2001). La température, le débit d'eau et la disponibilité en nourriture sont donc des facteurs environnementaux déterminants pour la croissance de l'huître perlière.

De plus, il a été démontré ultérieurement que des concentrations élevées de chlorophylle dans l'eau entrainaient une diminution significative du taux de croissance des huîtres *Crassostrea gigas* (Barillé et al., 2011). En effet, bien que la chlorophylle soit souvent utilisée comme un indicateur de la quantité de phytoplancton, les études montrent que cette relation n'est pas toujours linéaire. Une forte concentration de chlorophylle ne reflète pas nécessairement une augmentation de la biomasse de phytoplancton de haute qualité pour l'alimentation des huîtres. La chlorophylle peut parfois être associée à des formes de phytoplancton ou à du matériel organique qui sont moins digestibles ou moins nutritifs pour les huîtres. Par conséquent, la qualité de la nourriture disponible pour les huîtres peut diminuer, même si les mesures de chlorophylle suggèrent une abondance de ressources alimentaires (Grangeré et al., 2009). Un tel phénomène peut être à l'origine de l'allure de la courbe a été observé entre la concentration en chlorophylle du milieu et le taux de croissance des huîtres perlières.

Compte tenu de nos résultats et des observations passées, pour une croissance optimale, les huîtres *P. margaritifera* auraient besoin d'une concentration en chlorophylle comprise entre 0.25 et 0.30 µg/L, d'une température entre 27.5 et 28.5 °C et d'un débit d'eau suffisamment important pour permettre la mise en suspension d'une quantité importante de matière organique particulaire.

Outre la température et la disponibilité en nourriture algale évaluée par les mesures de concentration de la chlorophylle dans la colonne d'eau, il a également été montré que la croissance et les réserves énergétiques des huîtres dépendaient de l'intensité de la variation de ces facteurs. D'après nos observations le taux de croissance était positivement corrélé avec des écarts types de températures importants. *A contrario*, les réserves énergétiques des huîtres étaient constituées de manière optimale lorsque les écarts de température et de chlorophylle étaient intermédiaires.

Il est intéressant de souligner qu'à l'instar des résultats de Pouvreau & Prasil, c'est également à Takapoto que les plus faibles taux de croissance des huîtres perlières ont été mesurés dans notre étude. Cela étaye la croyance populaire locale des « huîtres naines de Takapoto » selon laquelle les huîtres de cet atoll seraient plus petites que les huîtres de la même espèce provenant des atolls voisins. Cependant le facteur génétique peut être écarté dans notre étude. En effet, l'ensemble des individus venaient de la même population originaire de Takapoto puis ont été ensuite transférés dans les autres atolls. Cette différence de croissance notable proviendrait en partie de facteurs environnementaux mais pourrait également être expliqué par l'existence de relation de compétitions intra et interspécifiques. Dans le lagon de Takapoto, de nombreuses huîtres domestiquées et sauvages cohabitent. La dernière évaluation du stock de *Pinctada margaritifera* réalisée à Takapoto remonte à 1999 (Zanini, 1999). A cette époque le nombre d'huître était estimé à 4.3 ± 0.67 millions d'individus pour 76 km^2. Ce nombre conséquent d'individus dans un volume restreint du lagon couplé à un renouvellement d'eau faible estimé à 268 jours (Pagès & Andréfouët, 2001), peuvent être à l'origine de compétition intraspécifique pour l'accès à la nourriture. En outre, les huîtres perlières ne sont pas les seuls bivalves filtreurs en présence. On y retrouve aussi des populations d'huîtres *Pinctada maculata,* aussi nommée en langue tahitienne « pipi », des bénitiers (*Tridacna maxima*) ou « pahua », des *Chama iostoma* ainsi que des *Arca ventricosa* « uu ». En 1993, un recensement de ces différentes populations conchicoles a été réalisé à Takopoto. A l'époque, 500 000 *Pinctada margaritifera,* 125 millions de *Pinctada maculata,* 11 millions de *Tridacna maxima,* 6 millions *Chama iostoma* de et 26 millions de *Arca ventricosa* étaient estimés entre 0 et 7 m de profondeur (S. Harris, 2001). L'ensemble de ces espèces seraient donc susceptibles d'entrer en compétition avec les huîtres perlières (Addessi, 1999).

4.4.3 Le taux de contamination en microparticules des huîtres explique-t-il la variabilité des indices de condition observée ?

Les paramètres environnementaux ne semblent pas être les seuls à l'origine des variations des indices de conditions des huîtres perlières. En effet, on observe une corrélation entre la présence de particules exogènes dans leurs chairs et la diminution du taux de croissance des

huîtres suivies lors de la mission « huîtres sentinelles ». La seule corrélation mise en évidence de manière significative était imputée à la présence de cellulose.

La cellulose est la molécule le plus abondante sur terre. Elle constitue la paroi cellulaire de nombreux végétaux avec une teneur variable entre 15 et 99 %. Parmi les espèces végétales contenant le plus de cellulose on retrouve le coton (95 à 99 % de cellulose) et le lin (70 à 75 % de cellulose). Cette molécule est un polysaccharide dont le nombre de maillons de glucose varie avec l'origine de la cellulose (INRS, 2011). La cellulose (coton) est la fibre naturelle la plus abondamment produite et peut arriver jusqu'au milieu marin par transport aérien ou bien via le rejet d'eaux usées des machines à laver (Henry et al., 2019). C'est pourquoi la cellulose est l'une des fibres le plus fréquemment signalées dans les océans (Mateos-Cárdenas et al., 2021).

Or, des tests d'exposition aigües de trois jours d'huîtres adultes *Crassostrea gigas* à des concentrations de 10 et 100 microfibres (60 µm) par litres de fibres naturelles (laine, coton ou coton biologique) ou de fibres synthétiques (polyester, acrylique ou nylon) ont révélés des effets délétères pour les individus exposés aux fibres naturelles (Détrée et al., 2023). La concentration la plus faible, considérée comme environnementalement pertinente, a suffi à moduler les fonctions digestives et immunitaires des huîtres de manière significative, ce qui pourrait avoir des répercussions potentielles sur la santé des huîtres lors d'expositions à long terme. La toxicité supérieure des fibres naturelles par rapport aux fibres synthétiques pourrait être liée à la fois à leurs caractéristiques physiques et chimiques. Les fibres naturelles sont plus rugueuses et moins uniformes en diamètre et en longueur que les fibres synthétiques et présentent des charges plus élevées en polychlorobiphényles et en hydrocarbures aromatiques polycycliques (Détrée et al., 2023).

La composition et la morphologie de nanocristaux et nanofibres à base de cellulose ont également été pointé du doigt comme responsables des effets toxiques observés chez trois espèces d'eau douce : *Scenedesmus obliquus* (une algue verte), *Daphnia magna* (un petit crustacé), et *Danio rerio* (le poisson zèbre). Les nanocelluloses correspondent à des matériaux fonctionnels dérivés de polymères naturels de cellulose. Ces nanomatériaux sont à la fois biodégradables et renouvelables, ce qui les rend attrayants pour des applications respectueuses de l'environnement. Cependant, des stress oxydatifs ont été observés chez les trois espèces, précédemment citées, après mise en contact de 48 à 96 heures avec ces nanoparticules de cellulose à des concentrations supérieures à 0.01 mg/L (Z. Wang et al., 2020).

Ces mises en évidence de toxicité peuvent être contre-intuitives et soulèvent la question de la sécurité des composés dits naturels pour lesquels la perception du risque est faible. Les caractéristiques intrinsèques des fibres naturelles (structure physique) ou leur fabrication (molécules chimiques associées à leur traitement pour des propriétés particulières) ne doivent pas être négligées car elles peuvent provoquer des effets toxicologiques (Détrée et al., 2023; Z. Wang et al., 2020).

L'origine de la cellulose retrouvée dans les huîtres de notre étude pourrait provenir principalement de deux sources. Ces fibres naturelles peuvent résulter d'apports directs d'eau usées non traitées des villages alentours vers le lagon. Parmi ces eaux usées, celles provenant des machines à laver peuvent être particulièrement chargées en microfibres. En effet, on estime que les vêtements en matières naturelles ou synthétiques relarguent entre 0.02 et 0.37 % de leur masse totale en microfibres à chaque lavage (Henry et al., 2019). L'autre source potentielle de la cellulose serait d'origine naturelle. Les atolls plats et calcaires des Tuamotus sont des zones parfaites pour les plantations de cocoteraies. Les noix ainsi récoltées et séchées servent en grande partie à la production de coprah (chair de coco séché, nom masculin en Polynésie) qui une fois pressé donnera la précieuse huile de coco largement utilisée localement et exportée (la Culture du Coprah). La couche fibreuse protectrice de la noix, le mésocarpe, est riche en cellulose, hémicellulose et en lignine (Abdullah et al., 2021). Une fois ouverts et vidés de leur pulpe, les mésocarpes de coco ne sont généralement pas valorisés et laissés en tas sur les langues calcaires des atolls. On peut donc imaginer sans mal, que certaines noix de cocos finissent dans le lagon ou bien que des fibres de celluloses soient amenées au milieu marin par des forces éoliennes ou hydrauliques. La cellulose peut également provenir de certaines algues de la famille des *Vaucheriaceae* ou encore des *Zygnemataceae* qui sont capables de synthétiser des microfibrilles de cellulose (Tsekos, 1999).

Contrairement aux particules de cellulose, les microparticules de plastiques n'ont quant à elles pas montré de corrélation significative que ce soit qualitativement ou quantitativement avec le taux de croissance des huîtres. Là encore cette contre-intuition a déjà été mise en évidence lors d'une exposition de gastéropodes d'eau douce, *Potampoyrgus antipodarum*, à des concentrations de microplastiques représentant jusqu'à 70 % de la nourriture qui leur était présentée. Après huit semaines d'exposition sur des individus adultes et deux semaines pour des organismes juvéniles, les escargots n'ont présenté aucun changement morphologique ni

perturbation du développement des juvéniles (Imhof & Laforsch, 2016). Certains organismes marins, comme illustrés avec les *Potampoyrgus antipodarum* ou bien les *Pinctada margaritifera* que nous avons étudiés, ne semblent pas être affectés par la présence de microplastiques dans leur milieu et dans leur chair. Cependant, il serait prématuré de conclure à la non-toxicité des microplastiques en l'absence de preuves visibles. Il est possible que les indicateurs utilisés ne reflètent pas pleinement l'étendue réelle des dommages causés par la présence de particules plastiques.

En effet, une étude publiée récemment a évalué l'impact de 5 mois d'exposition de micro et nanoplastiques de plastiques perlicoles usés (corde et collecteur en PE et PP) sur des huîtres adultes de l'espèce *Pinctada margaritifera*. Les résultats ont révélé des changements physiologiques des huîtres traduits par une diminution de leur efficacité d'assimilation des microalgues, mais également une altération de la biominéralisation des perles avec des couches d'aragonite plus fines et une modification de l'expression de certains gènes révélant un stress chez ces animaux (Gardon et al., 2024). Ces effets néfastes étaient observés même à des concentrations très faibles de MPs (0.025 et 1 μg L−1) jugées environnementalement pertinentes.

Pour conclure, notre suivi *in situ* de 1 200 huîtres dans quatre atolls polynésiens, nous a permis de mettre en évidence l'importance des facteurs environnementaux tels que la température, la concentration en microalgues du milieu et l'échelle de variation de ces deux paramètres sur les indices de conditions des huîtres. Bien que des microparticules de plastiques et de cellulose aient été retrouvés dans toutes les huîtres échantillonnées, seules une corrélation significative a pu être établie entre la quantité des particules de cellulose et une diminution du taux de croissance des huîtres perlières. Les résultats de l'analyse des échantillons qui avaient des seuils de contamination acceptables, ont révélé que ni la quantité, ni la nature des microplastiques retrouvés dans les huîtres, ne semblent impacter la croissance de ces animaux. Cependant, l'absence d'effet des particules de plastiques sur la croissance des huîtres serait à confirmer avec un échantillon plus important d'individus et n'affirme en rien une non-toxicité des plastiques. Le suivi d'autres paramètres physiologiques et génétiques comme la capacité d'assimilation, la biominéralisation ou l'expression génétique pourraient se révéler plus pertinents que ceux utilisés dans cette étude (taux de croissance et glycogène), en étant plus sensibles aux polluants plastiques.

4.4.4 Etat de contamination des huîtres perlières et de l'eau : comparaison avec des données ultérieures

Précédemment nous avons montré que la quantité de microplastiques dans les huîtres ne semble pas expliquer les variations des indices de conditions de nos animaux. Cependant, il est intéressant de noter que les quantités de MPs retrouvées dans nos huîtres s'échelonnaient entre 0.05 et 14.19 MPs.g^{-1} de chair humide (Annexe 6). Par atoll, la quantité de MPs par gramme de chair humide d'huître est de 6.04 ± 5.49 MPs.g^{-1} à Anaa, 4.14 ± 2.68 MPs.g^{-1} à Tikehau, 3.09 ± 1.2 MPs.g^{-1} à Takapoto et 2.78 ± 2.24 MPs.g^{-1} à Takaroa. A l'échelle mondiale, ces concentrations de microparticules de plastiques font partie des plus élevées mesurées mondialement. En effet, une étude réalisée sur des moules (*Magallana bilineata)* originaires du Golfe de Mannar fait état de la présence de particules de plastiques, majoritairement de tailles comprises entre 250 et 500 µm, dans les chairs de ces animaux à hauteur de 0.81 ± 0.45 MPs.g^{-1} de chair humide (Patterson et al., 2019). Une concentration similaire de 0.62 MPs.g^{-1} de taille inférieure à 1 500 µm a été rapportée dans des huîtres, de cinq espèces de *Crassostrea*, en Chine (Teng et al., 2019). En comparaison, les moules d'Angleterre (*Mytilus edulis*) ont montré des niveaux élevés de MPs, dont la classe de taille la plus présente était 50 à 100 µm, avec une moyenne de 12.6 items par individu (Catarino et al., 2017), tandis que les huîtres de la côte atlantique française (*Crassostrea gigas*) ont montré des concentrations inférieures de 0.61 ± 0.56 et 2.10 ± 1.71 items par individu respectivement (Phuong et al., 2018).

À l'échelle locale, en Polynésie française, une précédente étude a été réalisée afin d'évaluer l'état de contamination en MPs de l'eau de surface, de la colonne d'eau et de la chair d' huîtres et ce pour trois atolls perlicoles différents : Ahe, Manihi et Takaroa (Gardon et al., 2021). Takaroa ayant également été sélectionné dans notre étude il est possible de comparer les résultats de l'évaluation de la contamination de cet atoll obtenus à quelques années d'intervalle. En 2021, les taux de MPs dans les huîtres perlières et dans la colonne d'eau étaient respectivement de 19.1 ± 16.1 MPs.g^{-1} de chair humide et de 134.7 ± 224.0 MPs.m^{-3} (Gardon et al., 2021). Nos résultats montrent des niveaux de contaminations moindres avec 2.78 ± 2.24 MPs.g^{-1} dans les chairs des huîtres et 41.3 ± 26.5 MPs.m^{-3} pour l'atoll de Takaroa (Annexe 6 et 9).

Les prélèvements et le traitement des échantillons d'huîtres et de la colonne d'eau ayant été effectués selon les mêmes protocoles décrits par Gardon et al., (2021), les différences observées peuvent être attribuées à des variations dans les sources de pollution ou bien aux techniques d'analyse employées. En effet, grâce à l'utilisation d'un Raman 300R nouvelle génération couplé au développement d'un protocole de semi-automatisation des échantillons amélioré pendant cette thèse, le nombre de particules caractérisées au Raman a été largement augmenté. En moyenne 500 particules par échantillon étaient analysées contre 44 dans l'étude de Gardon et al., (2021). Cet effort d'échantillonnage plus important a contribué à réduire grandement les erreurs d'attribution de la nature des particules et ainsi de diminuer les surestimations potentielles de la quantité des microplastiques dans les échantillons.

4.4.5 Les huîtres perlières constituent-elles de bons bioindicateurs de la pollution en MPs du milieu ?

L'un des objectifs majeurs de la mission « huîtres sentinelles » était de déterminer si l'huître perlière *Pinctada margaritifera* pourrait être utilisée dans le futur comme bioindicateur fiable de la contamination en microplastiques des lagons polynésiens. Compte tenu du faible nombre d'échantillons d'eau et d'huîtres, la réponse à cette question sera partielle et ne permettra pas de tirer des conclusions définitives quant à l'efficacité de cette méthode de surveillance environnementale Cependant, nos résultats et les recherches ultérieures peuvent tout de même apporter des éléments de réponse quant à la fiabilité de cette espèce en tant que bioindicateur.

En comparant les différents critères morphologiques des particules retrouvées dans les huîtres et dans l'eau, nous pouvons émettre plusieurs hypothèses. Tout d'abord, la taille et la forme des particules retrouvées dans les huîtres et l'eau ne présentaient pas de différences marquées. Ainsi, ces deux critères ne semblent pas être déterminant lors de la filtration des particules de la colonne d'eau par les *P. margaitifera*. Cependant, il a été démontré que les huîtres de cette espèce sont capables de se nourrir d'une large gamme de particules (i.e. 2-200 µm), mais que l'efficacité de rétention dépendait de la taille de celles-ci (Pouvreau et al., 1999). D'après cette étude, le taux de rétention des particules de 1 µm est d'environ 10 % puis augmente progressivement pour être optimal (100 %) à partir de 5 µm. Dans la présente étude, les fractions de taille de particules inférieures à 200 µm représentaient plus de 80 % des particules présentes

dans la colonne d'eau des sites échantillonnés, donc potentiellement retenues par les huîtres. Cela explique l'homogénéité des tailles de particules entre l'eau et les huîtres.

La rétention des particules en fonction de leur forme semble être espèce-dépendante. En comparant les concentrations de microfibres et de microfragments de deux bivalves, la moule *Mytilus galloprovincialis* et une huîtres perlière *Pinctada imbricata radiata*, provenant des mêmes sites en Grèce, Manolaki et son équipe ont mis en évidence des différences d'abondance de ces deux catégories de particules en fonction de l'espèce considérée (Manolaki et al., 2023). En effet, les moules retenaient préférentiellement les microfibres alors que les huîtres accumulaient les microfragments. L'analyse de la forme des particules retrouvées dans l'eau aux différents sites et dans les huîtres ne montre pas de différence notable entre ces deux types d'échantillons. En effet, les particules de type « fragment » représente la forme majoritaire, entre 90 et 95 %, des particules identifiées quel que soit le type d'échantillon considéré. Dans l'état actuel des connaissances, le critère de la forme des particules ne semble pas jouer un rôle pour la sélection des particules chez *Pinctada margaritifera*.

En revanche, la nature des particules identifiées, totales puis en se focalisant sur les polymères plastiques, semble différer entre les huîtres et la colonne d'eau. Outre la calcite retrouvée uniquement dans les digestats d'huîtres qui provient très certainement de petits éclats de coquilles ayant contaminé les chairs lors de l'ouverture des bivalves, les autres éléments identifiés avaient pour origine des apports exogènes aux huîtres. Les pourcentages de particules de cellulose, de plastique et plus particulièrement ceux composés de polymères de polyéthylène et de polypropylène, étaient supérieurs dans les huîtres en comparaison à ceux rencontrés dans la colonne d'eau. A l'inverse, les particules de polyacrylonitrile, de polyester, de polystyrène et de polyuréthane étaient bien plus représentées dans les échantillons d'eau que dans ceux des huîtres. Il est important de souligner que ces conclusions reposent sur un nombre limité d'échantillons reflétant une quantification ponctuelle de l'état de contamination des huîtres et des lagons. Les résultats suggèrent que les huîtres de l'espèce *Pinctada margaritifera* sont capables de sélectionner les particules présentes dans leur environnement, accumulant ou rejetant ces éléments en fonction de leur nature chimique. Cette capacité résulte d'une adaptation des organismes filtreurs qui ont développés des moyens de sélection afin de cibler préférentiellement les particules qu'ils ingèrent. En effet, chez les bivalves, les particules alimentaires en suspension dans la colonne d'eau sont capturées par les branchies et transportées

dans le mucus vers les palpes labiaux (petits organes entourant la bouche) qui dirigent les particules vers la bouche pour ingestion ou vers le manteau pour rejet sous forme de pseudofèces (Espinosa & Allam, 2018). Un tri est donc effectué entre les particules ingérées et excrétées. Il a également été démontré que ces animaux peuvent ingérer sélectivement des microalgues spécifiques parmi un mélange de plusieurs espèces (Cognie et al., 2001), y compris celles de tailles et de formes similaires (Pales Espinosa & Allam, 2013). Cette capacité élaborée à sélectionner les particules alimentaires représente une adaptation à diverses contraintes rencontrées par les bivalves, incluant un régime alimentaire relativement dilué avec une grande proportion de particules non nutritives pouvant rapidement saturer leur système digestif (Espinosa & Allam, 2018). De la même façon les bivalves semblent également être capables d'ingérer préférentiellement certains types de polymères plastiques. En exposant des palourdes asiatiques de l'espèce *Corbicula flumine* à un mélange de microfibres de même taille de six polymères différents et présents dans les mêmes proportions, les chercheurs ont mis en évidence que les bivalves avaient ingéré significativement plus de microfibres de polyester que tout autre polymère (Li et al., 2019). Ces préférences alimentaires varient en fonction des espèces considérées. Des moules bleues, *Mytilus edulis* et des huîtres d'Atlantique, *Crassostrea virginica*, ont été exposées pendant 2 heures à des microfibres de polyamide (PA) et de polyester (PES) de taille similaire, ou à des microsphères de polyéthylène (PE) et de polystyrène (PS). L'analyse de leurs fèces et pseudofèces a montré que ces deux espèces ingèrent et excrètent différemment les microsphères (polystyrène) et les microfibres (nylon) (Mladinich et al., 2022).

Comme évoqué précédemment, chaque espèce de bivalves sélectionne les particules qu'elle ingère en fonction des propriétés physico-chimiques et de la taille des particules. En conclusion, pour être de bon bioindicateur de la pollution en MPs, l'espèce choisie doit ingérer sans biais les particules présentes dans son milieu. Si l'existence d'une excrétion différentielle des MPs est mise en évidence chez cette espèce, alors le nombre et les types de MPs trouvés dans l'intestin des bivalves dépendront des caractéristiques physiques et chimiques des particules (Ward et al., 2019). Dans ce cas, l'espèce considérée, via le biais biologique qu'elle occasionne, parait être un mauvais bioindicateur de la pollution des microparticules de plastiques dans l'environnement. Aux vues des résultats de notre étude concernant l'état de contamination d'huîtres *Pinctada margaritifera* comparés aux taux de contamination de la colonne d'eau, cette espèce ne semble pas rassembler les critères nécessaires pour être une bonne espèce

bioindicatrice. Il est important de souligner que ces conclusions se basent sur un nombre limité d'échantillons, et qu'il serait nécessaire d'augmenter ce nombre tout en prenant des précautions pour éviter la contamination des échantillons. Il serait également intéressant de sélectionner des individus de différentes tailles pour procéder à des suivis futurs *in situ*. En effet Patterson et al., (2019), a démontré que la taille des huîtres échantillonnées pouvaient influencer la corrélation entre la quantité de microplastiques présents dans le milieu et dans les chairs d' huîtres *Magallana bilineata*. Les schémas de distribution de l'abondance, de la forme et de la taille des particules de plastiques présentes dans l'eau étaient corrélés significativement aux taux mesurés dans les huîtres de grandes tailles (14-16 cm) alors qu'aucune corrélation n'a pu être établie avec les huîtres des tailles inférieures.

4.4.6 *Quid* de la pollution chimique des lagons ?

Une autre piste potentielle expliquant les différences observées après 6 mois d'immersion entre les indices de condition des huîtres en fonction de leur lieu de prélèvement, pourrait être expliqué par la pollution chimique des lagons. Les polluants chimiques peuvent avoir pour origine diverses activités anthropiques (agriculture, combustion de déchets, rejet d'eaux usées etc..) ou bien être relargués directement par les matériaux immergés comme les matériaux perlicoles plastiques par exemple. Afin de suivre l'état de pollution chimique des lagons plusieurs options existent. Un échantillonnage ponctuel de la colonne d'eau ou des sédiments, reconnus comme étant des intégrateurs de la pollution à long terme, peut être effectué (F. Galgani, 2006). Autrement, un échantillonnage à long terme de la colonne d'eau via l'utilisation de capteurs passifs accumulant les composés chimiques marins, peut également faire partie du suivi de la qualité de milieu marin.

Une étude récente a d'ailleurs comparé ces trois types de prélèvements afin de caractériser l'état de pollution d'une baie en Turquie (Çiftbudak et al., 2024). Les résultats de leurs travaux montrent que les capteurs passifs de type SPMD (Semi Permeable Membrane Device) permettaient de détecter des concentrations beaucoup plus faibles que les autres approches. Tout d'abord, en raison de leur grande sensibilité, le déploiement de capteurs passifs dans la colonne d'eau a permis de concentrer des contaminants présents en très faibles concentrations alors que la méthode d'échantillonnage directe aurait nécessité la filtration d'importants

volumes d'eau. Or, les contaminants retrouvés étaient des composés organiques hydrophobes (HOCs), comme les PCB (polychlorobiphényles), qui même en quantités infimes dans l'environnement sont connus pour leur grande toxicité. Les composés retrouvés dans les SPMD étaient généralement de plus petite masse molaire et donc plus solubles dans l'eau que ceux retrouvés dans les sédiments. En revanche, les sédiments prélevés contenaient une gamme plus large de contaminants, y compris des polluants plus lourds et moins solubles dans l'eau, tels que certains métaux lourds et des composés organiques de plus grande masse molaire. Les SPMD offrent donc une méthode innovante pour détecter les HOCs à des niveaux très bas et les sédiments fournissent une image des niveaux de pollution historiques et cumulés. Ces deux types d'échantillons sont donc complémentaires et permettent de caractériser de manière plus exhaustive la contamination chimique du milieu marin.

Pour notre étude *in situ*, nous avons choisi de nous concentrer sur la caractérisation chimique de la colonne d'eau. En effet les huîtres perlières évoluant généralement dans les premiers mètres sous la surface, nous avons disposé des capteurs passifs de type SPMD au niveau des lignes auxquelles étaient suspendues les huîtres. Les SPMD sont constitués d'une membrane semi-perméable, généralement fabriquée en polyéthylène, qui permet le passage sélectif des molécules hydrophobes tout en excluant les molécules plus grosses et hydrophiles. À l'intérieur de la membrane, on trouve un liquide accumulateur, souvent de la triolein (un triglycéride), qui imite les tissus lipidiques des organismes vivants. Cette substance a une forte affinité pour les composés organiques hydrophobes tels que les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), biphényles polychlorés (PCB) ou encore les pesticides organochlorés. Les SPMD fournissent une mesure intégrée sur le temps des concentrations de polluants, ce qui permet de capturer des variations temporelles et des événements de pollution transitoires que les échantillonnages ponctuels pourraient manquer. De plus, ces membranes sont capables de détecter des concentrations très faibles de polluants grâce à l'accumulation progressive des composés dans la phase lipidique, augmentant ainsi la sensibilité de détection. Étant donné que les SPMD utilisent une phase lipidique similaire aux tissus biologiques, ils fournissent une estimation de la biodisponibilité des polluants pour les organismes aquatiques. Le temps de déploiement était contraint par le temps des missions. Idéalement, ce type de capteur est déployé pendant 2 à 4 semaines. Au-delà de ce lapse de temps, l'encrassement des membranes est tel qu'il est difficile de les analyser. Ne revenant sur site, que tous les trois mois nous étions donc contraint de les laisser en immersion le temps de la mission, c'est-à-dire entre trois et cinq jours en fonction des îles. Une fois les membranes sorties de l'eau, celles-ci étaient congelées dans

des bocaux hermétiques. L'analyse de ce type de membranes est réalisée par extraction à l'aide de solvants organiques comme l'hexane. Les extraits sont ensuite analysés par chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse (GC-MS), pour identifier et quantifier les polluants présents. Cependant, nous ne disposions pas de ce type d'appareil au CIP, nous avons donc voulu faire appel à un laboratoire extérieur pour procéder à l'analyse des SPMD. Malheureusement, après de nombreux échanges avec plusieurs laboratoires européens nous n'avons pas trouvé de laboratoires pouvant effectuer ce type d'analyse ou bien pas dans des temps raisonnables nous permettant d'obtenir les résultats avant la fin de cette thèse. Cette complication logistique doit servir d'exemple pour le bon déroulement de futures caractérisations chimiques de milieu marin. Afin d'améliorer ce point, nous préconisons plusieurs pistes telles que l'acquisition de matériels destinés à l'analyse de ce type de membranes couplée au recrutement ou à la formation de personnels à ces protocoles. Cela permettra de réaliser l'ensemble du traitement des échantillons localement et de réduire le temps nécessaire pour obtenir les résultats. Temps qui peut être précieux en cas d'évènements soudains et intenses comme cela s'est déjà produit en Polynésie française dans le passé. Une autre possibilité serait de se rapprocher en amont, de laboratoires d'analyses capables de procéder à ce type d'analyse et ce dans des temps raisonnables même si les délais généralement annoncés par les équipes européennes étaient de l'ordre de plusieurs mois à une année aux vues du grands nombres de demandes et du faible nombre d'instituts capables de réaliser ces chromatographies en phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse (GC-MS).

4.4.7 Comment réduire les sources de contamination des échantillons ?

La recherche sur les microplastiques et les nanoplastiques a proliféré ces dernières années en réponse à l'escalade de la crise de la pollution plastique. Cependant l'intérêt rapide et exponentiel suscité par cette thématique souffre d'un manque de standardisation de protocoles (Bolo & Préville, 2020). L'absence de méthodes standardisées d'échantillonnage et de traitement d'échantillons peut entraîner des problèmes de contamination des échantillons. Cette contamination exogène peut induire une surestimation de la quantité de microplastiques et de nanoplastiques présents dans les échantillons environnementaux. De plus l'amélioration de la

résolution d'analyses des microscopes confocaux, tels que les Raman 300R, oblige à la prise de précautions plus importantes afin d'éviter d'éventuelles contaminations extérieures des échantillons lors de leur traitement. Malheureusement, malgré les précautions prises lors du traitement des échantillons de la mission « Huîtres Sentinelles », nous avons déploré la contamination de certains lots d'échantillons. Afin d'améliorer de futures recherches potentielles d'évaluation de la pollution plastique au Centre du Pacifique, et ailleurs, je vais dès à présent réaliser la liste la plus exhaustive possible des sources de contaminations susceptibles d'être intervenues lors du traitement de nos échantillons. Dans un second temps, je proposerai des alternatives méthodologiques afin de réduire les sources de contaminations potentielles.

En reprenant les étapes dans l'ordre, l'eau récoltée aux différents sites était transvasée dans un bocal en verre. Or, une étude récente montre que les instruments et contenants en plastique réduisent significativement la contamination par rapport aux instruments en verre ($p < 0.0001$). Les expériences avec du matériel en verre ont montré une contamination élevée (1 356.9 particules/ml) contre seulement 6.9 particules/ml pour les consommables en plastique. Cette différence est attribuée aux standards de fabrication et de stérilité des produits en plastique, contrairement aux instruments en verre souvent fournis dans des boîtes en carton avec une protection plastique minimale (Jones et al., 2024).

Une fois les échantillons rapatriés au CIP, plusieurs sources de contamination ont été identifiées comme probables lors de la phase de digestion des huîtres et des prélèvements d'eau. Les huîtres étaient à leur tour passées du sachet Zip dans lequel elles avaient été congelées vers un bocal un verre… Même erreur que celle explicitée dans le paragraphe d'avant. En amont de la digestion des échantillons, l'ensemble des solutions d'eau MilliQ, de H_2O_2 et de KOH était au préalablement filtré. Mais, la verrerie servant à la filtration (tulipe de filtration, erlenmeyer, bouteilles) était trop volumineuse pour être brulée dans le four à combustion disponible au CIP comme recommandé afin d'éliminer les éventuels résidus de microplastiques. La verrerie était donc rincée à plusieurs reprises avec de l'eau MiliQ filtrée entre chaque échantillon. D'autre part, compte tenu de la dangerosité potentielle des solutions utilisées, l'ensemble de ces étapes était réalisé sous une sorbonne. Les manipulations sous ce type de hotte peuvent également entrainer des contaminations des échantillons lors de leur manipulation (Jones et al., 2024). De manière plus générale, le laboratoire dans lequel étaient réalisées les étapes de digestions et de filtrations des échantillons, était soumis à de nombreux passages des employés du CIP. Les

courants d'air fréquents et la fréquentation régulière de personnel sans blouse a également potentiellement apporté des contaminations dans les échantillons (Aminah & Ikejima, 2023; Shruti & Kutralam-Muniasamy, 2023).

Cependant, des solutions fiables et peu coûteuses existent afin de limiter les sources de contamination des échantillons en microplastiques. Il est recommandé de conserver les échantillons dans des récipients en plastique stériles et neufs, de réaliser une précombustion systématique de la verrerie et les filtres utilisés, de nettoyer minutieusement l'espace dans lequel les manipulations des échantillons sont faites, de ne pas manipuler sous hotte (s'il ne s'agit pas de produits chimiques dangereux, si la manipulation sous hotte est nécessaire il faudra par contre s'assurer du bon entretien des filtres) et enfin de former le personnel de laboratoire sur les bonnes pratiques à mettre en place comme le port d'une surblouse en polypropylène non tissé, Tyvek®, ou coton tissé serré qui permettent de limiter l'apport de microparticules de plastique provenant des vêtements (ISO 18830:2016) (Aminah & Ikejima, 2023; Jones et al., 2024; Shruti & Kutralam-Muniasamy, 2023). Il est également essentiel d'inclure des témoins à chaque étape de process afin d'évaluer la contamination de fond (Shruti & Kutralam-Muniasamy, 2023).

4.5 CONCLUSION

Les résultats récoltés lors de la mission *in situ* « Huîtres Sentinelles » nous ont permis de mettre en lumière plusieurs faits marquants. Tout d'abord des différences significatives des indices de conditions ont été observées entre les différents lots d'huîtres de Takapoto, Takaroa, Anaa et Tikehau. Ces différences sont attribuables en partie aux variations mesurées des paramètres environnementaux à ces différents sites tels que la température et la concentration en chlorophylle de l'eau. Une amplitude trop prononcée de ces paramètres semble également avoir un effet néfaste sur la croissance et les réserves énergétiques des huîtres. Dans un second temps, l'étude de la quantité des particules retrouvées dans les chairs d'huîtres a permis de mettre en évidence une corrélation négative entre le taux de croissance des huîtres et la présence de particules de cellulose dans leurs tissus. Toutes les huîtres échantillonnées contenaient des particules de plastiques et ce peu importe le temps ou le site d'étude considéré. Cependant

aucune conclusion significative n'a pu être tirée entre la présence des particules de plastiques et la variation de la croissance des huîtres. D'autres facteurs, d'ordre chimique, expliqueraient peut-être une partie des différences de condition des huîtres observées et mériteraient plus d'attention lors de futures études. Malheureusement des problèmes de contaminations sont survenus au cours de cette étude. Afin de prévenir ce genre d'incidents, des mesures simples et peu coûteuses sont envisageables qui amélioreront grandement la qualité de futures analyses de pollution plastiques réalisées en Polynésie française. Pour l'heure, aux vues des résultats à notre disposition, il parait prématuré d'écarter catégoriquement *Pinctada margaritifera* des espèces bioindicatrices de l'état écologique des lagons soumis à la pollution plastique. Ces résultats préliminaires encouragent cependant à continuer l'investigation du potentiel de cette espèce en tant que bioindicatrice en considérant dans le futur des marqueurs biochimiques plus sensibles à la présence de plastique dans le milieu tels que la quantification de l'expression de gènes marqueurs de stress oxydatif ou de détoxification (Gardon et al., 2024). L'utilisation de marqueurs biologiques pour l'évaluation de la qualité des lagons devra impérativement être complété par des analyses chimiques de l'eau.

4.6 ANNEXES

***Annexe 1**. Résumé des tests statistiques effectués pour les comparaisons intra-atoll des concentrations de glycogène et du taux de croissance aux temps 1 et 2*.

Atoll	Temps	Paramètre	Test de Shapiro-Wilk p-value	Test de Levene p-value	Test comparaison de moyennes	Test post hoc	sites 1-2	sites 1-3	sites 2-3
Anaa	1	glycogène	0.207	0.264	Anova	tukey_hsd	3.31e-06 ****	3.09e-04 ***	ns
Anaa	2	glycogène	0.0358	0.137	Kruskal Wallis	Wilcoxon	0.002 **	ns	ns
Tikehau	1	glycogène	0.113	0.717	Anova	tukey_hsd	ns	ns	ns
Tikehau	2	glycogène	0.1569	0.1717	Anova	tukey_hsd	ns	ns	ns
Takapoto	1	glycogène	0.0062	0.3995	Kruskal Wallis	Wilcoxon	ns	ns	ns
Takapoto	2	glycogène	4.170481e-05	0.153	Kruskal Wallis	Wilcoxon	0.000456 ***	ns	ns
Takaroa	1	glycogène	0.0003	0.338	Kruskal Wallis	Wilcoxon	ns	ns	ns
Takaroa	2	glycogène	4.170481e-05	0.1531	Kruskal Wallis	Wilcoxon	0.000456 ***	ns	ns
Anaa	1	Croissance	0.013	0.035	Kruskal Wallis	Wilcoxon	ns	ns	ns
Anaa	2	Croissance	0.921	0.852	Anova	tukey_hsd	ns	ns	ns
Tikehau	1	Croissance	0.017	0.313	Kruskal Wallis	Wilcoxon	ns	ns	ns
Tikehau	2	Croissance	0.01	0.351	Kruskal Wallis	Wilcoxon	ns	0.001 **	ns
Takapoto	1	Croissance	0.000177	0.01468	Kruskal Wallis	Wilcoxon	0.000573 **	ns	ns
Takapoto	2	Croissance	0.00019	0.359	Kruskal Wallis	Wilcoxon	0.010 *	ns	ns
Takaroa	1	Croissance	1.473859e-14	0.8157	Kruskal Wallis	Wilcoxon	2.60e-02 *	3.06e-05 ****	2.60e-02 *
Takaroa	2	Croissance	0.00019	0.359	Kruskal Wallis	Wilcoxon	0.010 *	ns	ns

***Annexe 2**. Résumé des tests statistiques effectués pour les comparaisons inter-atolls des concentrations de glycogène et du taux de croissance aux temps 1 et 2.*

Temps	Paramètre	Test de Shapiro-Wilk p-value	Test de Levene p-value	Test comparaison de moyennes	Test post hoc	AAA - TIK	AAA - TKP	AAA-TKR	TIK-TKP	TIK-TKR	TKP-TKR
1	glycogène	3.405995e-07	0.00319	Kruskal Wallis	Wilcoxon	ns	0.000473 ***	ns	0.002030 **	ns	ns
2	glycogène	1.906232e-07	4.223361e-11	Kruskal Wallis	Wilcoxon	8.42e-04 ***	1.68e-08 ****	2.36e-08 ****	6.72e-05 ****	4.17e-04 ***	ns
1	Croissance	8.717711e-14	1.631961e-09	Kruskal Wallis	Wilcoxon	ns	7.32e-05 ****	2.41e-10 ****	6.00e-03 **	1.18e-08 ****	1.10e-02 *
2	Croissance	2.442792e-09	2.188176e-11	Kruskal Wallis	Wilcoxon	3.90e-16 ****	6.66e-36 ****	5.37e-06 ****	8.91e-09 ****	1.60e-06 ****	7.20e-26 ****

Annexe 3. *Identification de la nature des différentes particules retrouvées par gramme de chair dans les huîtres.*

huitre	ile	poids (g)	site	temps	Calcite	Cellulose	Mineral	Plastiques	Pigment	NI	somme (g/chair)
60	TAKAPOTO	19.7	1	2	3,05	0,51	0	2,28	0,05	5,08	10,96
68	TAKAPOTO	24.2	1	2	96,32	0,58	0,08	1,94	0,08	25,04	124,05
353	TAKAROA	20.22	1	1	1,83	0	0	0,35	0,10	9,89	12,17
363	TAKAROA	31.4	1	2	0,03	0,76	0	2,77	0,10	3,18	6,85
394	TAKAROA	42.1	1	2	0,48	0,14	0,10	0,24	0,12	2,38	3,44
422	TAKAROA	28.04	2	1	1,03	0,43	0,07	1,21	0,11	7,13	9,99
442	TAKAROA	16.13	2	2	0,12	0,31	0,06	6,82	2,98	3,10	13,39
466	TAKAROA	19.5	2	1	0,31	0,15	0,05	0,26	0,56	7,69	9,03
473	TAKAROA	17.81	2	2	0,06	1,29	0	4,60	0,28	5,61	11,85
490	TAKAROA	20.62	2	1	0,58	0,63	0	1,21	0,19	7,23	9,84
553	TAKAROA	24.98	3	2	0	0,56	0	4,00	0,04	12,77	17,37
584	TAKAROA	22.09	3	1	0,18	0	0,27	0,14	0,09	6,79	7,47
587	TAKAROA	26.15	3	2	1,57	0,31	0	1,95	0,04	0,46	4,32
651	ANAA	14.96	1	1	4,75	0,33	0,07	2,41	0,27	80,75	88,57
727	ANAA	12.43	2	1	0	0	0,32	4,34	0,64	135,24	140,55
820	ANAA	10.4	3	2	0,10	1,54	0	7,40	0,29	36,83	46,15
874	ANAA	18.33	3	2	0,11	0,76	0,05	1,96	0,33	10,91	14,13
909	TIKEHAU	42	1	1	0,12	0,14	0,05	0,33	0,14	3,57	4,36
916	TIKEHAU	17.51	1	2	0,69	1,20	0	4,74	0,11	21,76	28,50
941	TIKEHAU	31.74	1	1	0,41	0,44	0	1,39	0,16	10,78	13,17
975	TIKEHAU	30.32	1	1	4,09	0,30	0,03	0,46	0,07	11,35	16,29
990	TIKEHAU	17.43	1	2	0,34	0,63	0,06	1,55	0,40	5,74	8,72
996	TIKEHAU	22.67	1	1	3,09	0,26	0,09	0,35	0,09	17,60	21,48
1062	TIKEHAU	19.3	2	1	0,47	0,21	0,05	1,50	0,26	25,18	27,67

Annexe 4. *Identification de la nature des différentes particules retrouvées dans les huitres en pourcentages.*

Identification Huitre	Ile	poids	site	temps	% Calcite	% Cellulose	% Mineral	% Plastiques	% Pigment	% NI
60	TAKAPOTO	19.7	1	2	**27,8**	4,6	0,0	20,8	0,5	46,3
68	TAKAPOTO	24.2	1	2	**77,6**	0,5	0,1	1,6	0,1	20,2
353	TAKAROA	20.22	1	1	15,0	0,0	0,0	2,8	0,8	81,3
363	TAKAROA	31.4	1	2	0,5	11,2	0,0	**40,5**	1,4	46,5
394	TAKAROA	42.1	1	2	13,8	4,1	2,8	6,9	3,4	69,0
422	TAKAROA	28.04	2	1	10,4	4,3	0,7	12,1	1,1	71,4
442	TAKAROA	16.13	2	2	0,9	2,3	0,5	**50,9**	**22,2**	23,1
466	TAKAROA	19.5	2	1	3,4	1,7	0,6	2,8	6,3	85,2
473	TAKAROA	17.81	2	2	0,5	10,9	0,0	38,9	2,4	47,4
490	TAKAROA	20.62	2	1	5,9	6,4	0,0	12,3	2,0	73,4
553	TAKAROA	24.98	3	2	0,0	3,2	0,0	23,0	0,2	73,5
584	TAKAROA	22.09	3	1	2,4	0,0	3,6	1,8	1,2	90,9
587	TAKAROA	26.15	3	2	**36,3**	7,1	0,0	**45,1**	0,9	10,6
651	ANAA	14.96	1	1	5,4	0,4	0,1	2,7	0,3	91,2
727	ANAA	12.43	2	1	0,0	0,0	0,2	3,1	0,5	96,2
820	ANAA	10.4	3	2	0,2	3,3	0,0	16,0	0,6	79,8
874	ANAA	18.33	3	2	0,8	5,4	0,4	13,9	2,3	77,2
909	TIKEHAU	42	1	1	2,7	3,3	1,1	7,7	3,3	82,0
916	TIKEHAU	17.51	1	2	2,4	4,2	0,0	16,6	0,4	76,4
941	TIKEHAU	31.74	1	1	3,1	3,3	0,0	10,5	1,2	81,8
975	TIKEHAU	30.32	1	1	**25,1**	1,8	0,2	2,8	0,4	69,6
990	TIKEHAU	17.43	1	2	3,9	7,2	0,7	17,8	4,6	65,8
996	TIKEHAU	22.67	1	1	14,4	1,2	0,4	1,6	0,4	81,9
1062	TIKEHAU	19.3	2	1	1,7	0,7	0,2	5,4	0,9	91,0

Annexe 5. *Résultats des tests statistiques de comparaison de la moyenne inter-atoll des différentes natures de particules identifiés dans les huitres à t_1 et t_2.*

Paramètre	Shapiro-wilk (p-value)	Levene (p-value)	test comparaison de moyenne	Significativité
Calcite	4.89e-10	2.2e-16	kruskal	ns
Cellulose	0.014	0.33	kruskal	ns
Mineral	4.341e-06	0.6533	kruskal	ns
Plastiques	0.004	0.46	kruskal	ns
Pigment	1.109e-08	0.76	kruskal	ns

Annexe 6. *Identification et quantification des différents polymères plastiques retrouvés par gramme de chair dans les huîtres.*

Ile	site	type échantillon	numero huitre	temps	PE	PE et PP	PE et PS	PP	Polyacry-lonitrile	Polyester	PU	PS	PVC	SBR	Resine Phenoxy	PA6	somme (g/chair)
Anaa	1	huitre	651	2	1,94	0,13	0	0,13	0	0,13	0	0,07	0	0	0	0	2,41
Anaa	2	huitre	727	2	2,50	0	0	0,94	0,31	0,31	0	0,31	0	0	0	0	4,37
Tikehau	1	huitre	909	2	0,25	0	0	0,09	0	0,07	0	0	0	0	0	0	0,41
Tikehau	1	huitre	941	2	3,00	0	0	0,29	0,09	0,09	0	0	0	0	0	0,27	3,74
Tikehau	1	huitre	975	2	1,12	0,08	0	0,28	0	0,12	0	0	0	0	0	0	1,60
Tikehau	1	huitre	996	2	2,14	0,20	0	0,40	0	0,49	0	0	0	0	0	0	3,23
Tikehau	2	huitre	1062	2	7,13	0,27	0	0,22	0	0,33	0	0	0	0	0	0	7,95
Takaroa	1	huitre	353	2	0,27	0,00	0	0	0,37	0	0	0	0	0	0	0	0,64
Takaroa	2	huitre	422	2	4,94	0,19	0	0,29	0	0,37	0	0,19	0	0	0	0	5,97
Takaroa	2	huitre	466	2	0,09	0	0	0	0,05	0,05	0	0	0	0	0	0	0,25
Takaroa	2	huitre	490	2	0,66	0	0	1,65	0	0	0	0,11	0	0	0	0	2,42
Takaroa	3	huitre	584	2	0	0	0	0	0	0	0,05	0	0	0	0	0	0,05
Anaa	3	huitre	820	3	2,03	0,38	0	0	0	0,25	0,13	0	0,13	0	0	0	3,18
Anaa	3	huitre	874	3	0,96	0	0	13,04	0	0,19	0	0	0	0	0	0	14,19
Tikehau	1	huitre	916	3	3,84	0,73	0	0,19	0	0,49	0,18	0,18	0	0,18	0	0	5,80
Tikehau	1	huitre	990	3	2,49	0	0	3,43	0,36	0	0	0	0	0	0	0	6,27
Takapoto	1	huitre	60	3	1,16	0,19	0	1,42	0	0	0	0,77	0,39	0	0	0	3,94
Takapoto	1	huitre	68	3	0,99	0,08	0	1,13	0	0,04	0	0	0	0	0	0	2,25
Takaroa	1	huitre	363	3	1,28	0	0	0,17	0	0,18	0	0	0,06	0	0	0	1,75
Takaroa	1	huitre	394	3	0,07	0	0	2,19	0,01	0	0	0	0	0	0	0	2,26
Takaroa	2	huitre	442	3	4,34	0,66	0	0,55	0	0	0	0	0	0	0	0	5,55
Takaroa	2	huitre	473	3	5,32	0,46	0	0,13	0	0,15	0	0,15	0	0	0	0	6,21
Takaroa	3	huitre	553	3	2,90	0,14	0	0,13	0	0	0,14	0	0	0	0	0	3,32
Takaroa	3	huitre	587	3	1,36	0,05	0	0,61	0	0,09	0	0	0	0	0	0	2,11

Annexe 7. *Résultats des tests statistiques de comparaison de la moyenne inter-atoll des différents polymères plastiques identifiés dans les huitres à t_1 et t_2.*

Paramètre	Shapiro-wilk (p-value)	Levene (p-value)	test comparaison de moyenne	Significativité
PE	0.024	0.26	kruskal	ns
PE_PP	3.523e-05	0.91	kruskal	ns
PP	1.294e-08	0.2	kruskal	ns
Polyacrylonitrile	3.39e-08	0.87	kruskal	ns
Polyester	0.001	0.32	kruskal	ns
PU	2.576e-08	0.9	kruskal	ns
PS	6.713e-08	9.783e-05	kruskal	ns
PVC	1.978e-09	2.437e-07	kruskal	ns
SBR	2.186e-10	0.5	kruskal	ns
PA6	2.186e-11	0.5	kruskal	ns

Annexe 8. *Identification de la nature des différentes particules retrouvées par m^3 dans l'eau en fonction des sites d'échantillonnage.*

Ile	site	Calcite	Cellulose	Mineral	Plastiques	Pigment	NI	somme (m3)
Tikehau	1	0	19,06	0	12,13	17,33	311,85	48,51
Tikehau	3	12,47	9,36	0	39,50	0	859,67	921,00
Takaroa	1	0	11,01	1,22	76,43	14,06	573,56	676,29
Takaroa	2	0	2,26	0,90	35,25	4,52	362,47	405,41
Takaroa	3	0	3,85	0	12,32	4,24	534,77	555,17

Annexe 9. *Identification de la quantité des différents polymères plastiques retrouvés par m^3 dans l'eau en fonction des sites d'échantillonnage.*

Ile	site	type échantillon	temps	PE	PE et PP	PE et PS	PP	Polyacry-lonitrile	Polyester	PU	PS	PVC	SBR	Resine Phenoxy	PA6	somme (m3)
Tikehau	1	eau	3	0	0	1,73	0	0,87	0	0	0	9,53	0	0	0	12,13
Tikehau	3	eau	3	0	0	0	7,28	1,04	3,12	0	1,04	22,87	0	4,16	0	39,50
Takaroa	1	eau	3	35,47	1,22	0	9,78	0,61	7,95	6,73	0	14,68	0	0	0	76,43
Takaroa	2	eau	3	10,85	1,36	0	0	0,90	16,27	0,90	0	4,97	0	0	0	35,25
Takaroa	3	eau	3	1,54	0,39	0	0	0,39	2,31	5,01	0	2,70	0	0	0	12,32

Annexe 10. *Résultat des tests statistiques effectués pour les comparaisons inter-atolls de la température aux temps 1 et 2.*

Temps	Paramètre	Test de Shapiro-Wilk p-value	Test de Levene p-value	Test comparaison de moyennes	Test post hoc	AAA - TIK	AAA - TKP	AAA-TKR	TIK-TKP	TIK-TKR	TKP-TKR
1	temperature	3.471594e-14	0.00783	Kruskal Wallis	Wilcoxon	0.00e+00 ****	0.00e+00 ****	6.88e-09 ****	ns	1.18e-03 **	1.33e-02 *
2	temperature	7.255603e-11	2.874913e-21	Kruskal Wallis	Wilcoxon	7.41e-03 **	1.22e-06 ****	ns	ns	ns	5.00e-02 *

Annexe 11. *Résultat des tests statistiques effectués pour les comparaisons inter-atolls de la chlorophylle aux temps 1 et 2.*

Temps	Paramètre	Test de Shapiro-Wilk p-value	Test de Levene p-value	Test comparaison de moyennes	Test post hoc	AAA - TIK	AAA - TKP	AAA-TKR	TIK-TKP	TIK-TKR	TKP-TKR
1	Chlorophylle	2.41527e-10	1.089873e-76	Kruskal Wallis	Wilcoxon	1.45e-11 ****	8.49e-08 ****	1.45e-11 ****	2.92e-08 ****	1.75e-01 ns	1.46e-11 ****
2	Chlorophylle	1.45503e-12	6.593992e-135	Kruskal Wallis	Wilcoxon	1.30e-02 *	1.25e-11 ****	1.10e-06 ****	1.25e-11 ****	1.25e-11 ****	1.25e-11 ****

Annexe 12. *Coefficients de corrélation et significativité des corrélations entre le Taux de croissance (TC) et la concentration en glycogène musculaire (Glycogène) et les paramètres environnementaux enregistrés.*

Paramètre	Coefficient de corrélation (TC)	p-value (TC)	Coefficient de corrélation (glycogène)	p-value (glycogène)
Température	-0.4977	**2.3204e-15**	0.0207	0.7586
Ecart température	0.5318	**1.1035e-17**	0.1908	**0.0042**
Chlorophylle	-0.3314	**4.101925e-07**	-0.0811	0.2276
Ecart chlorophylle	-0.0999	0.1370	0.2356	**0.0004**

5 PERSPECTIVES ET ENJEUX DE LA PERLICULTURE EN POLYNESIE FRANÇAISE : LES DEFIS A L'HORIZON

5.1 PREAMBULE

La perliculture est inscrite dans l'histoire de la Polynésie française de manière indélébile depuis plus de 60 ans. Au fil des ans, l'importance de cette filière a grandi et génère aujourd'hui plusieurs milliards de francs pacifiques de recette (DRM, Statistiques 2022 : La perliculture). Mais ce secteur en plein essor jusqu'aux années 90, c'est peu à peu heurté à des difficultés de différentes natures. Le premier obstacle rencontré fut économique. La surproduction de perles dans les années 90 entraîna une diminution drastique du cours de la perle (Andréfouët et al., 2012). Cette augmentation intense des activités perlicoles ne fut pas sans conséquence pour les lagons polynésiens. L'ensemble des matériaux utilisés dans les fermes perlières étant en plastique, un amas considérable de déchets c'est alors entassé dans le fond des lagons et sur les plages des atolls perlicoles par manque de gestion efficace des déchets produits (Andréfouët et al., 2014; Crusot et al., 2023; Gaertner-Mazouni et al., 2018). Il faudra attendre près de 30 années pour que ces pratiques peu vertueuses ne soient prises en considération. Des campagnes de grandes envergures furent alors initiées par la Direction des Ressources Marines (DRM) pour quantifier l'ampleur des déchets perlicoles dans le milieu naturel. Ce n'est que depuis une dizaine d'années, que les conséquences de la présence de ces plastiques vis-à-vis des organismes marins ont commencé à être de réels sujets d'inquiétude en Polynésie française. Or

la perliculture dépend à part entière de la bonne santé des huîtres perlières *Pinctada margaritifera*, qui sont particulièrement sensibles à la dégradation de la qualité de leur milieu environnant et notamment à la pollution aux métaux lourds (Gueguen et al., 2017). La perliculture en Polynésie française est un exemple parmi tant d'autres illustrant l'absurdité de l'ouroboros, ce serpent mythique mordant sa propre queue. En l'état actuel des choses, si aucunes mesures et changements radicaux des us et coutumes ne sont opérés, la pérennité de la perliculture pourrait être remise en cause.

Ainsi à la lumière des éléments bibliographiques disponibles et de nos résultats, une analyse factuelle a été réalisée afin de réaliser une liste des principales préoccupations actuelles et à venir auxquelles doit et devra faire face la perliculture en Polynésie française. Puis, dans un second temps, seront présentées les initiatives et innovations techniques qui visent à assurer un avenir plus durable pour la perliculture.

5.2 LA PERLICULTURE, UNE FILIERE SOUS PRESSION

5.2.1 Les huîtres perlières menacées par la perliculture et les activités humaines

En l'absence d'alternatives efficaces et accessibles, le plastique est plus que jamais utilisé comme matériau principal dans le secteur aquacole. L'aquaculture est un des principaux contributeurs de la contamination en macro et micro déchets plastiques du compartiment marin (Khanjani et al., 2023). En Polynésie, l'aquaculture majoritaire est illustrée par la perliculture. Ainsi, 1 603 tonnes de déchets plastiques seraient générées chaque année pour l'ensemble des atolls perlicoles (Crusot et al., 2023). A l'échelle mondiale on estime qu'environ 22 % des déchets plastiques sortent du circuit de gestion classique et finissent dans la nature (OECD 2022). Ce taux atteindrait 75 % dans certains atolls perlicoles du fait de l'éloignement géographique, du coût élevé de rapatriement ou encore du refus de certaines compagnies à embarquer les déchets pour leur traitement dans des zones dédiées (Crusot et al., 2023). La moitié de ces déchets mal gérés risquerait alors de contaminer le compartiment marin (Crusot et al., 2023). A ces déchets marins s'additionne le plastique perlicole neuf immergé chaque

année par les concessions perlicoles (Crusot et al., 2023) ainsi que les déchets historiques de plastiques accumulés dans les lagons depuis plusieurs décennies (DRM, 2015, 2018).

Localement, la quantité de plastique dans les atolls perlicoles peut donc atteindre des concentrations importantes (Gardon et al., 2021). Or le plastique perlicole peut s'avérer toxique pour les organismes marins. De précédentes études ont mis en évidence la sensibilité de l'huître perlière *Pincatda margaritifera* lorsqu'elle était exposée à des plastiques perlicoles. Des modifications d'ordre moléculaire jusqu'à une échelle physiologique ont été observées chez les huîtres exposées aux plastiques.

Parmi ces perturbations notables, une augmentation du pourcentage d'anomalies de développement et de mortalité a été observée chez les larves de *P. margaritifera* après une exposition de 24 ou 48 h à des lixiviats de plastiques perlicoles (Gardon et al., 2020a). A travers le développement des tests toxicologiques en microplaques que nous avons réalisés nous avons pu affiner la définition de la sensibilité de cette espèce lors de son développement précoce. Après l'exposition de larves de *P. margaritifera* pendant 24 heures à un gradient de concentration de lixiviats obtenus à partir de cordes et de collecteurs perlicoles neufs, le pourcentage d'anomalies larvaires de chaque concentration a été calculé. Grâce à la projection de modèle adapté, la CE50, soit la concentration efficace de plastique à laquelle 50 % des larves d'huîtres présentaient des anomalies de développement après seulement 24 heures d'exposition, a été déterminé à 10.2 g de plastiques par litre pour cette espèce (Goulais et al., 2024). *Pinctada margaritifera* faisait partie des espèces les plus sensibles testées lors de nos expériences. La phase larvaire n'est pas la seule à présenter des perturbations en présence de contamination plastique chez cette espèce.

En effet, les travaux de Tony Gardon ont également permis de démontrer que les fonctions immunitaires, la croissance, les réserves énergétiques et la gamétogénèse d'huîtres matures de l'espèce *Pinctada margaritifera* étaient fortement perturbées en présence de microbilles de polystyrène (Gardon et al., 2018, 2020b). D'autres recherches ont évalué l'effet de 5 mois d'exposition de micro et nanoplastiques (de 0.4 à 200 µm) issus de matériaux perlicoles sur des *Pinctada margaritifera* adultes. Les résultats ont montré que des concentrations jugées environnementalement plausibles (0.025 à 1 $\mu g.L^{-1}$) provoquaient une diminution de l'efficacité d'assimilation des microalgues par les huîtres et modulaient également les profils d'expressions de certains gènes clés (Gardon et al., 2024).

Cependant la pollution plastique des atolls n'est pas la seule responsable de tous les maux observés chez les huîtres perlières. Lors de la mission « Huîtres Sentinelles » 1 200 huîtres perlières furent suivies pendant 6 mois à travers quatre atolls différemment impactés par les activités anthropiques. Parmi les résultats notables de cette mission, une corrélation significative a pu être établie entre l'augmentation des particules de cellulose dans les chairs des huîtres et la diminution du taux de croissance. En accord avec le constat préalablement établi par (Détrée et al., 2023), les particules de cellulose perturbent la physiologie des huîtres et ce même à de faibles concentrations. La cellulose retrouvée dans ces animaux peut avoir pour origine des sources naturelles comme les fibres de coco (présence de nombreuses cocoteraies dans les atolls des Tuamotu) et certaines algues (Tsekos, 1999) ou bien résulter des eaux de lavage des machines à laver (Henry et al., 2019) relarguées directement dans les lagons sans traitement préalable. Toutefois, aucune corrélation claire n'a pu être trouvée entre la quantité de particules de plastique dans les chairs de ces animaux et leur taux de croissance ou leurs réserves en glycogène. Cet élément nous invite à reconsidérer l'impact des activités anthropiques en ne se focalisant pas uniquement sur la présence de plastiques dans l'environnement. Bien que naturelle, la cellulose peut également résulter de l'activité humaine et entraîner des effets délétères, potentiellement plus importants que ceux causés par les particules de plastiques.

Outre l'état de santé des huîtres reflétant un stress en présence de micro et nanoplastiques, la biominéralisation des perles peut également être impactée en présence de particules exogènes. Il a été démontré que les couches d'aragonite déposées sur les perles sont plus fines lorsque les huîtres sont exposées à 1 µg de plastique perlicole par litre comparé aux conditions sans plastique (Gardon et al., 2024). De plus, à cette même concentration, le nombre de keshi, perle de forme anarchique résultant de la biominéralisation du greffon après rejet de nucléus, était significativement supérieur par rapport aux conditions contrôles. En outre, lors du processus de biominéralisation les huîtres peuvent intégrer des microplastiques dans les couches de nacre déposées sur leur coquille et sur les perles en formation (Gardon et al., 2024; Han et al., 2022). Différentes natures de polymères plastiques tels que le polystyrène, la cellophane (hydrate de cellulose) et le polyéthylène ont été identifiées parmi les impuretés présentes dans la nacre. Les particules les plus grandes identifiées atteignaient les 100 µm de longueur (Han et al., 2022). Pour garantir la qualité de la perle polynésienne, chaque perle est classifiée selon des critères rigoureux comme sa forme, sa couleur, son lustre, son diamètre, son poids et la présence d'imperfections. Chacun de ces critères contient des catégories déterminant le degré de

perfection de la perle qui servira ensuite à lui attribuer une valeur marchande. Par conséquent, la présence de microplastiques à la surface des perles augmente le nombre d'impuretés, ce qui réduit significativement leur qualité et donc leur valeur. Un milieu contaminé en plastique représente donc un obstacle à l'obtention de perles de haute qualité et contribue à une dévalorisation de la valeur marchande de la perle.

En conclusion, les plastiques impactent l'ensemble du cycle de vie des huîtres perlières. Les effets mis en lumière résultaient de périodes de mise en contact courtes à modérées (entre 24 heures et 6 mois) entre les animaux et les plastiques. Ces éléments soulèvent d'autant plus d'inquiétudes concernant l'impact potentiel à long terme que subissent les huîtres dans les atolls perlicoles. Il a été montré en laboratoire que le plastique impacte la reproduction des huîtres, entraîne une diminution des fonctions immunologiques, ralentit leur croissance, augmente les anomalies de développement chez les larves et diminue la qualité des perles (Gardon et al., 2018; 2020a; 2020b; 2024). Toutes ces répercussions font craindre de lourdes conséquences sur la viabilité à long terme de la filière perlicole. Les microparticules de plastiques ne sont pas les seules contaminations observables dans les lagons polynésiens. Au cours de cette thèse, l'accent a été mis sur le danger représenté par l'ingestion de particules de celluloses par les huîtres perlières. Pour garantir la bonne santé des huîtres et, par conséquent, la pérennité de la filière perlicole, il faudrait envisager de réduire les diverses sources de pollutions anthropiques identifiées. Les eaux ménagères en font partie et pourraient faire l'objet de traitements avant leur rejet dans le milieu naturel afin de les débarrasser des particules résultant du lavage des vêtements.

5.2.2 La perliculture : Modification des écosystèmes lagonaires à grande échelle

L'exploitation de nos résultats met en évidence, qu'au-delà du danger spécifique que représente la perliculture pour les huîtres perlières, cette filière constitue également une menace potentielle pour les écosystèmes lagonaires dans leur ensemble. Ce point sera développé en commençant par les impacts à l'échelle microscopique avant de s'étendre à une échelle macroscopique.

5.2.2.1 Impact au niveau bactérien : conséquences de la pollution biologique des plastiques perlicoles

A travers une expérience réalisée en mésocosmes nous avons pu démontrer que l'immersion de quantités importantes de plastiques perlicoles neufs pendant deux mois favorisait la prolifération de certains genres bactériens. Cette observation inédite nous a permis d'envisager plusieurs hypothèses. Tout d'abord, les bactéries dont l'abondance fut sur-exprimée en condition de pollution plastique élevée semblent résistantes aux produits de lixiviations émis par ces plastiques neufs. La surabondance de ces genres bactériens pourrait indiquer que ces bactéries sont capables d'utiliser les plastiques ou les composés chimiques relargués, par ces supports perlicoles, comme source de carbone (Wright et al., 2020) ou bien qu'elles profiteraient de niches écologiques laissées vacantes par d'autres bactéries (Freilich et al., 2011) moins résistantes aux relargages chimiques des plastiques. L'introduction de plastiques dans le milieu pourrait donc provoquer des déséquilibres écologiques bactériens (Ye et al., 2021). Or les bactéries marines jouent des rôles prépondérants dans les écosystèmes marins. Pour ne citer que quelques-unes des grandes fonctions connues qu'elles remplissent, les bactéries marines photosynthétiques contribuent à la production primaire, d'autres sont indispensables pour la réalisation des cycles biogéochimiques, elles décomposent la matière organique, elles entrent dans des relations symbiotiques avec divers organismes marins influençant leur santé et leur développement et enfin à plus large échelle elles modulent l'ensemble des écosystèmes marins en influençant la diversité biologique et les réseaux trophiques (Azam, 2004). Au même titre que les bactéries terrestres, leurs homologues aquatiques peuvent être pathogènes et provoquer des infections bégnines à mortelles chez les organismes marins. Ainsi parmi les bactéries favorisées par des concentrations importantes de plastiques identifiées lors de nos tests en mésocosmes, nous avons noté la présence de familles bactériennes potentiellement pathogènes. Trois familles ont donc retenu notre attention : les *Rhodobacteraceae*, les *Flavobacteriaceae* et les *Vibrionaceae*. Des bactéries appartenant à ces familles ont déjà été incriminées comme responsables d'épisodes infectieux et de mortalité accrue chez différentes espèces d'algues, de coraux, de bivalves ou encore de poissons (Boettcher et al., 2005; Cooney et al., 2002; Fernandes et al., 2012; Lopez et al., 2022; Nowlan et al., 2020; Pantos et al., 2003; Kusuda et al., 1992). Plus spécifiquement, des bactéries du genre *Photobacterium* ont été surexprimées dans nos bacs hautement pollués en plastiques perlicoles. Or ce genre bactérien en particulier présente un danger sanitaire important pour de

nombreux organismes marins et pour les humains (Rivas et al., 2013). Ces observations, réalisées en mésocosmes, montrent pour la première fois le risque sanitaire accru auquel les lagons pollués en plastiques seraient exposés (Goulais *et al*., 2024, *soumis*).

Ainsi les lagons fortement pollués par la présence de plastiques pourraient engendrer un déséquilibre au niveau bactérien ce qui, dans les scénarii les plus pessimistes, provoquerait un effet cascade sur l'ensemble de l'écosystème en place. Cependant, les bactéries marines ne seront pas les seuls organismes à subir des perturbations de grandes ampleurs si la jauge de la contamination plastique des lagons continuait à augmenter.

5.2.2.2 Impact sur le développement larvaire : conséquences de la pollution chimique des plastiques perlicoles

Pour combler certaines lacunes identifiées par la Directive Cadre Stratégie pour le Milieu Marin (Stratégie pour le milieu marin) notamment sur le manque de données toxicologiques sur les effets de la contamination plastique sur les espèces tropicales, nous avons mené une série de tests (Goulais et al., 2024). Ces tests réalisés à partir de lixiviats de plastiques perlicoles visaient à estimer la concentration efficace de plastiques à partir de laquelle on observait 50 % d'anomalies de développement chez cinq espèces tropicales. Les espèces étudiées pendant ces tests toxicologiques étaient : *Pinctada margaritifera*, *Saccostrea cucullata*, *Holothuria whitmaei*, *Litopenaeus stylirostris*, et *Tripneuste sgratilla.* Ces espèces ont toutes une importance à la fois économique et écologique pour la Polynésie française. Or, lors de ces tests nous avons remarqué que toutes ces espèces s'avéraient sensibles à la présence de plastiques mais que leur degré de sensibilité variait. Les larves d'holothuries étaient les plus fragiles à la présence de plastiques et la moitié des larves présentaient des anomalies dès 6.6 g de plastique dans le milieu. L'espèce la moins sensible aux lixiviats de plastiques perlicoles s'est avérée être *Saccostrea cucullata*avec une CE50 atteinte à 71.5 g de plastique par litre. Toutefois, les estimations de CE50 pour ces différentes espèces, bien que relativement élevées au premier abord, doivent être interprétées avec un regard critique. En effet, les résultats obtenus résultent de temps d'exposition des larves (de 24 à 93 heures) et de lixiviation du plastique perlicole (24 heures) restreints. Or, dans les milieux naturels contaminés en plastiques, ces temps sont bien plus prolongés qu'expérimentalement ce qui peut induire une sensibilité

accrue des larves. Concernant les concentrations de plastiques retrouvés dans les lagons, à l'heure actuelle aucune estimation exhaustive n'a été réalisée sur l'ensemble des matériaux plastiques immergés dans les atolls perlicoles, mais il est admis que localement les concentrations atteintes peuvent être très élevées (Gardon et al., 2021).

5.2.2.3 Impact sur des huîtres adultes : conséquences de la pollution physique des plastiques perlicoles

En plus de l'effet chimique, mis en lumière avec les résultats des tests de toxicité développés lors de cette thèse, le plastique perlicole est aussi responsable de pollution physique. Lors de leur vieillissement les matériaux perlicoles vont, comme tout plastique, se fragiliser et se dissocier en particules de tailles millimétriques jusqu'à nanométrique (Ali et al., 2021). Ces petites particules ont d'ores et déjà été identifiées dans les lagons polynésiens (Andréfouët et al., 2014; Gardon et al., 2021). De par leurs petites tailles, ces particules aquatiques sont assimilables par les organismes marins. La présence de particules dans des animaux provenant des lagons polynésiens a déjà été prouvée lors de campagnes d'échantillonnage d'huîtres perlières provenant de trois lagons perlicoles polynésiens, Ahe, Manihi et Takaroa (Gardon et al., 2021). Lors de la mission « Huîtres Sentinelles » réalisée durant cette thèse, des particules de plastiques ont également été retrouvées dans toutes les huîtres échantillonnées dans les lagons de Takapoto, Takaroa, Anaa et Tikehau. Les matériaux perlicoles étant composés de polymères plastiques parmi les plus couramment utilisés comme le polyéthylène et le polypropylène (Geyer et al., 2017), il n'est pas possible d'affirmer que les particules de ces mêmes polymères retrouvés dans les organismes marins de ces lagons proviennent de l'activité perlicole. D'autres sources sont possibles comme la pêche, le tourisme, les déchets ménagers des populations locales ou encore des apports extérieurs des lagons (Galgani et al., 2020). Mais au vu des importantes quantités de matériaux plastiques perlicoles provenant des fermes en activité ou abandonnées dans certains atolls (Crusot et al., 2023; Gaertner-Mazouni et al., 2018), ce secteur est sans nul doute responsable de la production d'une partie des particules de plastiques retrouvées dans les organismes marins. Outre les huîtres perlières, des microparticules de plastiques ont déjà été identifiées dans les bénitiers (communication personnelle, Thèse en cours d'Irène Godéré) ainsi que dans plusieurs espèces de poissons tropicaux (Garnier et al., 2019). Une fois ingérées, ces particules de plastiques peuvent être la

cause de nombreux effets néfastes observables aussi bien au niveau moléculaire avec une modulation de l'expression de certains gènes comme ceux relatifs à l'immunité (Browne et al., 2013; Green, 2016; Gardon et al., 2020b), que physiologique en entraînant par exemple une diminution de la fécondité et la reproduction des animaux (Dobson et al., 2017; Cole et al., 2015) ou encore comportementale en altérant des comportements de survie essentiels comme la prédation chez des animaux contaminés (Ferreira et al., 2016). Compte tenu des effets néfastes provoqués par l'ingestion de plastiques décrits dans la littérature, on peut s'attendre à des répercussions similaires sur les organismes marins vivants dans les lagons polynésiens contaminés par la présence de plastiques.

La présence de quantités importantes de plastiques perlicoles dans certains lagons fait craindre l'émergence de risques sanitaires, chimiques et physiques pour l'ensemble des organismes peuplant ces milieux. Dans les cas les plus graves, une surabondance de bactéries pathogènes pourrait entraîner des épizooties marines. De plus, les stades larvaires, particulièrement sensibles à la qualité de leur environnement, ainsi que la reproduction des animaux pourraient être largement impactés par la pollution plastique, ce qui entraînerait une chute des populations. Plus globalement, en perturbant un maillon de la chaîne trophique dans les lagons tropicaux, c'est l'ensemble de l'équilibre de l'écosystème qui pourrait être déstabilisé. En outre, la pollution plastique n'est pas la seule menace pesant sur ces organismes. Les changements climatiques actuels et futurs exacerbent ces pressions, créant une synergie de menaces qui met en danger les écosystèmes marins.

5.3 FACTEURS AUTRES QUE LA POLLUTION PLASTIQUE POUVANT IMPACTER LA PERLICULTURE

5.3.1 Le changement climatique

La Terre est soumise à des changements climatiques de grande ampleur. Les experts du Groupe d'experts Intergouvernemental sur l'Evolution du Climat (GIEC) prévoient une augmentation de +1.2 à 1.9 °C des températures à la surface du globe d'ici 2040 en fonction des scénarii possibles de tendance de l'évolution des émissions annuelles de CO_2 (Cour des

comptes, 2024a). Les scientifiques alertent également sur les autres conséquences de la hausse des températures atmosphériques. En effet, il faudra aussi faire face à une augmentation des températures marines, à l'acidification des océans et à la fonte de la calotte glaciaire, ce qui entraînera une diminution de la salinité des océans (Campbell et al., 2007). Les variations conjointes de la température, du pH et de la salinité des milieux marins suscitent des inquiétudes quant à l'avenir de la vie marine. Les secteurs économiques dépendants des océans risquent également d'être impactés (Cour des comptes, 2024b). Concernant la perliculture, plusieurs points peuvent apporter des éléments de réponse sur l'avenir de cette filière en Polynésie française.

De nombreuses études se sont penchées sur ces problématiques en exposant, en laboratoire, des huîtres aux conditions futures annoncées par les experts du GIEC. L'interaction de la diminution du pH, de l'augmentation de la température et de la réduction de la salinité ralentit la croissance pour l'huître du Pacifique, *Crassostrea gigas* (Ko et al., 2014), et augmente son taux de mortalité (His et al., 1989). En combinant une diminution du pH et de la température, il a été constaté des réductions de la taille ainsi qu'une augmentation du nombre de larves de formes anormales pour les larves d'huîtres de l'espèce *Saccostrea glomerata* (Parker et al., 2009). Ces mêmes effets négatifs ont été également mis en évidence pour des larves d'huîtres *Ostrea angasi* exposées à un pH de 7.79, une température de 30°C (soit 4 °C au-dessus de la température normale de leur milieu) et une salinité de 20 ppm (Cole et al., 2016). À l'inverse, Waldbusser et al., (2011) ont découvert que bien que la calcification des coquilles de juvéniles de *Crassostrea virginica***,** diminuait avec l'acidification du pH, ces effets négatifs étaient partiellement atténués par une diminution de la salinité et une élévation de la température. L'effet combiné de ces trois facteurs sur des larves de *Crassostrea angulata* n'a pas eu d'incidence sur les jeunes huîtres (Thiyagarajan & Ko, 2012). Les réponses des huîtres face à ces stress environnementaux semblent être très espèces dépendantes.

Plus spécifiquement, quelques recherches ont été réalisées sur l'huître perlière *P. margaritifera*. Pour caractériser l'effet cumulé de l'augmentation de la température et de l'acidification de l'eau sur la biominéralisation et le métabolisme *P. margaritifera* plusieurs conditions ont été testées par Le Moullac et al., (2016). La gamme de pH testée était de 8.2, 7.8 et 7.4 et celle de la température était de 22, 26, 30 et 34 °C. les résultats ont montré que le métabolisme énergétique, l'ingestion, la consommation d'oxygène et la croissance des huîtres chutaient significativement pour la température maximale testée (34 °C) (Le Moullac et al., 2016). De

plus, quatre des neufs gènes du manteau impliqués dans la biominéralisation de la coquille et de la nacre des huîtres, ont montré une variation d'expression significative en fonction de la température. L'expression maximale et minimale de ces gènes était respectivement à 26 et 34 °C. Mais aucune interaction entre température et l'acidification n'a été révélée dans cette étude.

Un autre élément est à prendre en compte : changements de température et des modifications de la trajectoire des courants océaniques sont prédits au cours des prochaines décennies et devraient altérer la surface et la productivité des zones écologiques proches du gyre subtropical du Pacifique Sud, zone où se trouve la Polynésie. Cela entraînerait une diminution de la biomasse et de la taille moyenne du phytoplancton et pourrait également avoir des répercussions sur la productivité des lagons (Bell et al., 2013). Or, il a été démontré que les *Pinctada margaritifera* préféraient se nourrir de phytoplanctons supérieurs à 2 µm (Fournier et al., 2012) ainsi, selon les modèles de simulations DEB (Dynamic Energy Budget) développés par Sangare et al., (2020), ces changements pourraient affecter la reproduction et la croissance des huîtres perlières et avoir un impact sur les rendements de la perliculture.

Au regard des études spécifiques de *P. margaritifera* et de celles effectuées sur d'autres espèces de bivalves, les modifications environnementales prédites pour les décennies à venir pourraient entraîner une diminution de la croissance des huîtres, une augmentation des anomalies de développement des larves, une réduction de la taille des individus, une modification de leur métabolisme, impacter leur reproduction et enfin altérer la biominéralisation des huîtres. Toutes ces répercussions hypothétiques pourraient être préjudiciables pour l'avenir de la perliculture en Polynésie française.

Le changement climatique actuel et à venir exerce une pression de grande ampleur sur l'ensemble de la planète. Pour faire face à ces nouvelles conditions environnementales, les organismes devront s'adapter. Cependant, de forts taux de mortalité et la disparition de nombreuses espèces sont à prévoir (Penn & Deutsch, 2022). Afin d'aider les écosystèmes et les organismes à faire face à ces changements, la réduction des pressions supplémentaires « évitables », comme la pollution plastique, est indispensable.

5.3.2 Une diminution de recrutement larvaire inquiétante

En Polynésie française, les huîtres utilisées par les perliculteurs résultent presque exclusivement du captage de larves sauvages (Reisser et al., 2020). Des collecteurs, matériaux plastiques spongieux, sont immergés dans les lagons afin de servir de support à l'établissement de larves d'huîtres pélagiques émises au moment des périodes de reproduction. Les animaux collectés vont ensuite passer en phase de grossissement jusqu'à ce que les huîtres atteignent une taille suffisante pour être greffées (Viard, 2001). Cependant, depuis quelques années, certains atolls clés pour la filière perlicole enregistrent une chute drastique du collectage de larves. Cela a été observé aux Gambier depuis 2018 (Bruyère et al., 2023), à Takaroa depuis 2014 (IEOM, 2020), mais également à Ahe (Reisser et al., 2020). Plusieurs explications semblent être à l'origine de ces phénomènes.

Bruyère et al., (2023) ont montré une forte corrélation entre le régime des vents et le captage de larves. Les mois venteux pendant la saison chaude, période privilégiée de la reproduction des *P. margaritifera*, seraient corrélés avec de faibles taux de captage observés aux Gambier.

Une autre explication a été donnée pour l'atoll de Takaroa. Cet atoll, considéré comme semi fermé, a été caractérisé lors d'évènements de faibles captages de larves par : une température de surface élevée, une faible énergie de vague et des vents faibles. Ces conditions particulières peuvent favoriser une anoxie des couches profondes, des blooms phytoplanctoniques et générer un stress pour les huîtres (André et al., 2022). Les événements de mortalité massive dans cet atoll ont été enregistrés pour la première fois en 2000-2001 parmi les huîtres d'élevage en eaux peu profondes (Andréfouët et al., 2015). En 2013-2014, des mortalités massives ont touché à la fois les huîtres d'élevage et sauvages à toutes les profondeurs. Un bloom phytoplanctonique de grande ampleur, nommé « Vatia », a eu lieu en 2013 et pourrait expliquer en partie ce deuxième épisode majeur de mortalité à Takaroa (IEOM, 2020). Sept années après ce pic de mortalité, les conséquences de ces stress intenses restent visibles à Takaroa. Les huîtres d'élevage introduites poussent lentement et l'effort de reproduction est faible (Monaco et al., 2021). Cependant, aucun nouvel épisode de mortalité n'est survenu depuis, et les huîtres réintroduites sont toujours vivantes. En 2022, une équipe de recherche estimait que la collecte de naissains pourrait donc reprendre (André et al., 2022). Il aura fallu attendre 10 années pour observer de nouveau en 2024 un collectage encourageant de larves de *Pinctada margaritifera* à Takaroa (*Communication personnelle avec la DRM*).

Concernant l'atoll de Ahe dans les Tuamotu, la décroissance du collectage observé ne peut pas être attribué à un manque d'individus adultes car 14 millions d'huîtres exploitées et 666 000 huîtres sauvages peuplent ce lagon (Andréfouët et al., 2016). Les causes émergentes seraient les pratiques d'élevage conduites par les perliculteurs (Reisser et al., 2020). *Pinctada margaritifera* est une espèce hermaphrodite protandre. Les huîtres sont majoritairement mâles jusqu'à deux ans et deviennent progressivement femelles, mais l'exploitation perlicole se fait principalement sur des jeunes mâles, tués après la récolte des perles à environ 4.5 ans ou 6 ans en cas de sur-greffe. Or, à l'âge de 6 ans, seuls 27 % des huîtres *P. margaritifera* sont femelles (Reisser et al., 2020). Le biais du sexe-ratio en faveur des mâles est donc surement l'une des causes du faible taux de recrutement larvaire observé dans certains atolls perlicoles.

Une pénurie d'huîtres guette donc certains atolls prépondérants pour la perliculture en Polynésie. L'une des causes affichées est la diminution du recrutement de naissains de larves d'huîtres perlières observée depuis quelques années. Cet effondrement des taux de recrutement larvaire est une conséquence de l'action conjointe de pressions anthropiques et climatiques pesant sur les stocks d'huîtres sauvages et de mauvaises pratiques perpétrées par les acteurs de la perliculture. En réponse à ces problèmes chroniques de collectage plusieurs solutions pourraient être envisagées. En premier lieu, les sites de collectage pourraient être redéfinis. En effet, les zones optimales de collectages des larves sont peut-être différentes des zones actuelles correspondant à des zones historiques de collectage identifiées dans le passé et qui ont peu évolué depuis (Andréfouët et al., 2024; Bruyère et al., 2023). Des modélisations générées à partir des données environnementales et de collectage pour les atolls des Gambier, de Ahe et de Takaroa, ont permis d'identifier des zones de "puits" où les larves s'accumuleraient sous certains régimes de vent et certaines conditions environnementales (Andréfouët et al., 2024; Bruyère et al., 2023; Reisser et al., 2020). Dans l'avenir des investigations similaires sur d'autres atolls prépondérants pour la perliculture, pourraient fournir de précieuses recommandations pour optimiser les efforts de captages des larves d'huîtres perlières. De la même manière, ces études permettront d'identifier les zones les plus propices à la réintroduction d'huîtres (si un déclin a été identifié dans la population sauvage) (Andréfouët et al., 2024; Bruyère et al., 2023). D'autres pistes pour relancer le succès reproductif des huîtres consisteraient à la réimplantation dans le milieu naturel de certaines huîtres ayant déjà donné une ou plusieurs perles plutôt que de les sacrifier. Ces individus âgés pourraient ainsi contribuer

à rétablir un ratio mâles/femelles plus équitable dans la population d'huîtres et augmenter la production de larves au sein du lagon (Reisser et al., 2020).

5.4 PROGRES ET AMELIORATION

Grâce au travail de partage de connaissances perpétré ces dernières années par les institutions scientifiques locales et à leurs observations empiriques, les perliculteurs sont plus que jamais conscients des changements auxquels leur activité doit et va devoir faire face. Cependant, une étude menée par Crusot et al., (2023) a montré que près de 78 % des perliculteurs interrogés avaient conscience que leur activité avait un l'impact sur les lagons, mais qu'ils n'adoptaient pas nécessairement des pratiques écologiques ou responsables. Ainsi ces enquêtes ont démontré que les perliculteurs ont un plus grand intérêt pour le profit immédiat de leur activité plutôt que pour la préservation ou le maintien de la qualité du lagon à long terme (Crusot et al., 2023). Or, les acteurs de la perliculture sont la clé de voute de la durabilité de la perle noire polynésienne. Une prise de conscience est palpable parmi les perliculteurs de la nouvelle génération, leur implication dans ce changement est primordiale. Un effort doit être fait pour sensibiliser davantage l'ensemble de ces acteurs à ces enjeux majeurs. Heureusement, face à l'urgence de la situation, des actions individuelles et collectives ont déjà débuté.

5.4.1 Améliorer la qualité des échanges et la transmission de savoirs

La sensibilisation du grand public et des parties concernées est un point majeur à améliorer pour que les perliculteurs adoptent massivement des pratiques plus respectueuses. A l'initiative de la DRM et de l'Ifremer, des rencontres entre les perliculteurs et les institutions scientifiques s'organisent régulièrement. J'ai par exemple eu l'occasion de faire partie de ces échanges à plusieurs reprises à Takapoto avec la DRM au cours de nos missions de terrain où encore à Tahiti lors de la journée de la perliculture organisée par l'Ifremer en octobre 2023. Ces échanges visaient à présenter la charte des bonnes pratiques aux perliculteurs (par la DRM) et à restituer l'avancée des recherches sur l'huître perlière, tout en évoquant les perspectives et retombées pour le secteur perlicole. Des recherches portant sur des thématiques larges de

recherches fondamentales ont été abordées mais étaient souvent bien éloignées des préoccupations premières des perliculteurs (*Communications personnelles avec des perliculteurs*). D'après les retours des perliculteurs, la science réalisée aujourd'hui sur le territoire polynésien leur paraissait parfois déconnectée de la réalité du terrain. Les professionnels de ce secteur déploraient également le manque d'adaptabilité du discours des scientifiques les laissant parfois avec plus de questionnements qu'à leur arrivée. Pour renouer un dialogue où chaque partie à une voix entendue, il serait nécessaire de mieux intégrer les retours des perliculteurs dans les programmes de recherche et d'adapter le discours scientifique aux besoins et aux connaissances des perliculteurs. N'oublions pas que le maître mot de la recherche ifremérienne est « Une science belle, c'est une science écoutée et partagée ». Ainsi un effort supplémentaire doit impérativement être mis sur la médiation scientifique en organisant régulièrement des moments d'échanges constructifs entre scientifiques et perliculteurs. C'est à cette unique condition que de réelles avancées durables pourront être initiées.

Lors des missions de terrain, un manque de partage de connaissances a été déploré par la population locale. Les professionnels de la perliculture, les pêcheurs, les Tavanas (maires) et la population locale ont exprimé leur déception face au peu de retours fournis par la communauté scientifique après leur passage dans les îles. Pourtant, l'investissement et l'aide des habitants montraient clairement leurs nombreuses préoccupations concernant l'avenir de leur lagon. Ainsi, après chaque grand projet *in situ*, il serait nécessaire de restituer, de manière synthétique et accessible, les résultats marquants des recherches effectuées sur place. Cela permettrait, d'une part, de remercier l'investissement et la coopération des personnes rencontrées et, d'autre part, de les sensibiliser à la nécessité de préserver durablement leur environnement.

Dans cette optique, j'avais envoyé une note aux Tavanas après notre première mission dans le cadre du projet « Huîtres Sentinelles » pour les informer de nos actions sur place (Annexe 1). Ce compte rendu synthétique avait suscité un vif enthousiasme et donné lieu à de nombreux échanges constructifs lors de notre retour dans les Tuamotu quelques semaines plus tard. Un rapport final du projet « Huîtres Sentinelles » sera également transmis aux Tavanas concernés pour les tenir informés des principaux résultats obtenus.

5.4.2 Ramassage et valorisation des déchets

5.4.2.1 Récupération des déchets en mer

L'un des enjeux écologiques majeurs consiste en la récupération des déchets plastiques historiques qui jonchent le fond de certains atolls et présentent un danger pour tous les organismes marins (Law, 2017). Dans ce sens, de larges campagnes de récupération des déchets profonds ont été réalisés par la DRM. Lors de ces opérations de nettoyage, une importante logistique est déployée. En amont du nettoyage, les zones d'accumulation des déchets perlicoles ont été identifiées grâce à des sonars, ROVs, sondeurs multifaisceaux ou encore grâce à la prospection de plongeurs (DRM, 2015, 2018). Ces campagnes de repérages ont été réalisées pour les principaux atolls perlicoles de Takaroa, Ahe, Manihi, Raroia, Takume et Takapoto, entre 2015 et 2017 par la DRM aidée de prestataires extérieurs. Il est également possible de localiser les stocks historiques de déchets perlicoles grâce à des entretiens menés auprès des perliculteurs comme cela a été réalisé par Gaertner-Mazouni et al., (2018). Une fois les amas de déchets identifiés, des plongeurs professionnels sont mobilisés sur place pour récupérer ces matériaux perlicoles laissés à l'abandon (Figure 39). Grace aux équipes de plongeurs, 28 tonnes (sur les 3 800 répertoriées) de déchets perlicoles ont pu être repéchées à Takaroa en 2017. La même année, des actions similaires ont également été menées à Manihi et ont permis de débarrasser le lagon de 28.6 tonnes (sur les 38.8 identifiées) de déchets après près de 72 heures de plongée par les équipes de plongeurs professionnels. A l'heure actuelle, aucune mission de nettoyage des lagons n'a été réalisée à Ahe, Raroia et Takume où pourtant respectivement 175.2, 100.3 et 30.3 tonnes de déchets perlicoles immergés ont été identifiés (DRM, 2015, 2018). Cela peut s'expliquer par le défi logistique, les coûts financiers ou encore la dangerosité pour les plongeurs que représentent ces missions de collectage des déchets perlicoles sous-marins.

5.4.2.2 Récupération des déchets à terre

Une estimation de la quantité des déchets perlicoles stockés à terre a également été faite en 2019 par la DRM pour les atolls de Arutua, Manihi, Ahe, Takapoto et Takaroa (DRM, 2019). Pour l'ensemble de ces atolls c'est plus de 11 000 m^3 de déchets terrestres qui ont été répertoriés

dont environ 5 000 m^3 seraient collectables (DRM, 2019). Dès 2018, des opérations de nettoyage des atolls ont commencé à Mangareva. L'équipe de Ti ai Moana a collecté 50 m^3 de déchets perlicoles amassés dans des « big bags » (sac de gravats) (Ti ai Moana, 2019). Puis de 2021 à 2024 une vaste campagne de nettoyage des déchets terrestres a été pilotée par la DRM dans les atolls de Apataki, Arutua, Ahe, Manihi, Takaroa, Takapoto, Takume, Aratika, Katiu, Fakarava, Raiatea, Rangiroa, Tahaa et aux Gambier (Tableau 11). Grace à la mobilisation des agents de la DRM, des perliculteurs, des employés de mairies ou encore de bénévoles, plus de 2 600 m^3 de déchets ont été ramassés à terre, stockés dans des big bags et expédiés par goélettes vers Papeete (Figure 40). Une fois à Tahiti, les déchets étaient transportés vers le Centre d'Enfouissement Technique (C.E.T.) de PAIORO (DRM, 2017).



Figure 39. Opération de nettoyage effectuée par une équipe de plongeurs à Takaroa. *Photo Ti AI MOANA, Rapport : SARL TI AI MOANA. Mission collecte des déchets perlicoles pour DRM, 2017.*

Table 11. Volume en m³ des déchets perlicoles terrestres collectés par la DRM depuis 2021. *Données transmises par la DRM et mises à jour le 06/08/2024.*

	2021	2022	2023	2024	TOTAL /ILE
AHE		334	186		520
GAMBIER	233		300	194	727
TAKAROA		224		154	378
APATAKI	100	101			201
TAKUME		99	127		226
MANIHI	20	80	55		155
TAKAPOTO		74			74
ARUTUA		66	13	70	149
ARATIKA		51			51
FAKARAVA		27	5	30	62
TAHAA		10			10
RAIATEA		4			4
RANGIROA			42		42
KATIU				5	5
TOTAL	353	1070	728	453	**2604**



Figure 40. Opération de nettoyage des déchets perlicoles réalisée à Takapoto en mars 2022*. De gauche à droite : Maëva GOULAIS (Ifremer), Yann FOLLIN (DRM), Thomas TROPHIME (DRM), Tavi TEHEI (DRM-Takapoto) et Marcelino (DRM-Takapoto). Crédit photographie : Vetea LIAO (DRM).*

Ces campagnes de nettoyage sporadiques ne peuvent permettre de gérer efficacement l'hémorragie continuelle de déchets générés par le secteur de la perliculture. Pour éviter le recours à de telles actions, le plus simple serait encore de récupérer au fur et à mesure les déchets produits. Pour aller dans ce sens, la DRM a multiplié les actions de médiations afin de sensibiliser les perliculteurs pour qu'ils adoptent des pratiques plus vertueuses de gestion de leurs déchets. C'est-à-dire de récupérer quand cela est possible les matériaux hors d'usage marins et terrestres et de les entreposer directement dans des big bags. A cela doivent donc s'ajouter des actions telles que des passages réguliers de goélettes permettant d'acheminer les big bag vers Tahiti. Autre possibilité, le traitement des déchets peut être réalisé sur place, par exemple grâce à des unités de pyrolyse transportables qui permettraient de transformer les déchets perlicoles en carburant. Ce projet est actuellement en phase de tests (Communication personnelle avec des acteurs locaux). D'autres solutions alternatives permettant une revalorisation des déchets, ont été émises par l'équipe de Plastic Odyssey, en escale sur le territoire au début de l'année 2024, à la suite d'essais en partenariat avec la DRM. En effet, cette équipe parcourt le monde depuis plusieurs mois à bord d'un « navire laboratoire » et ce afin d'apprendre et de transmettre au grès de leurs rencontres, des solutions innovantes, durables et accessibles, de valorisation des déchets plastiques. Ils ont, entre autres, testé le potentiel des cages de protection et des collecteurs perlicoles à être revalorisées en planches de construction. Ces tests encourageants devraient servir de modèles à l'établissement d'unités de transformations et de production d'objets revalorisés à partir de déchets perlicoles en Polynésie française.

5.4.3 Diminuer l'utilisation de plastiques

Même si toutes les instances scientifiques pointent aujourd'hui du doigt les dangers imminents que représente la pollution plastique pour les écosystèmes, il n'existe pour le moment pas d'alternatives écologiques à l'intégralité des matériaux plastiques utilisés en mer. En Polynésie française par exemple, des projets sont en cours pour remplacer certains matériaux plastiques utilisés en perliculture par des matériaux biosourcés, comme les coupelles de collectage de naissains (Crusot et al., 2021), ou bien naturels comme les cordes en PE et PP qui pourraient être remplacées par des cordes en fibres de coco (Louis Le Gué et al., 2024, *article soumis, communication personnelle*). Mais ces matériaux sont encore sujets à des recherches

afin d'améliorer leur coût, le rendement énergétique de leur production et leurs performances mécaniques afin d'augmenter leur compétitivité face aux matériaux plastiques utilisés actuellement. Ces matériaux devront également faire l'objet de tests toxicologiques afin de s'assurer qu'ils n'aient pas d'effets nocifs sur les organismes marins. Ce sont des conditions *sine qua none* si l'on veut que ces nouveaux matériaux soient adoptés en toute sécurité et à grande échelle par les professionnels de la filière.

Une autre piste pour réduire partiellement la quantité de plastiques utilisés dans les fermes perlières serait le développement d'écloseries. En plus de pallier la crise actuelle du recrutement des larves dans certains lagons, cette option de contrôle des reproductions permettrait à la fois de mieux gérer les quotas d'huîtres en âge d'être greffées livrées à chaque ferme, de pouvoir sélectionner les géniteurs en fonction des caractéristiques recherchées et de réduire le nombre de collecteurs dispersés de manière excessive dans les lagons. Pour la seule année 2024, des autorisations ont été délivrées pour l'immersion de 6 727 stations de collectage, soit plus de 4 036 000 collecteurs pour l'ensemble des perliculteurs polynésiens (Données transmises par la DRM 2024). Cette quantité de collecteurs représente plus de 315 tonnes de plastiques (le poids moyen d'un collecteur est estimé à 78.2 g ± 9, *données personnelles*) immergés chaque année. Or, la production de larves en écloserie permettrait de réduire la quantité de collecteurs utilisés en n'en immergeant que quelques-uns au moment de la fixation des larves en laboratoire, environ 21 jours après leur éclosion. Une écloserie opérationnelle est déjà en activité à Fakarava (écloserie commerciale) et à Rikitea (écloserie personnelle). En 2022, l'écloserie de Fakarava a permis la production de 1.5 million d'huîtres grâce à cette technique (Fakarava – la précieuse écloserie). Cependant, le retour d'expérience d'autres pays comme le Japon, la Nouvelle-Zélande et la France, qui utilisent des écloseries dans le secteur ostréicole depuis plus de 20 ans, montre que le captage naturel ne pourra jamais être entièrement remplacé par la production de larves issues d'écloseries, en raison de préoccupations liées à l'état sanitaire, à la résistance et à la qualité du naissain, ainsi qu'à la gestion de la consanguinité (*Informations fournies par la DRM*). Le collectage naturel et l'utilisation d'écloseries doivent être envisagés comme des méthodes complémentaires.

Les défis environnementaux auxquels les atolls perlicoles sont confrontés exigent une prise de conscience accrue et des actions concertées de la part des acteurs du secteur. Bien que des initiatives individuelles et collectives aient déjà émergé, il est important de poursuivre et

d'amplifier ces efforts vers des pratiques plus durables. La sensibilisation des perliculteurs à l'importance de la préservation de leur environnement reste cruciale, notamment face à l'utilisation de plastiques dans les fermes perlières et aux défis liés à la gestion des déchets. Cependant, avec un engagement continu et des mesures adaptées, il est possible de réduire progressivement les concentrations de plastiques dans les lagons. Parallèlement, la mise en place de suivis rigoureux de l'état écologique de ces écosystèmes précieux, comme les lagons perlicoles, permettra d'anticiper et de prévenir d'éventuels impacts négatifs. En renforçant ces efforts, il devient envisageable de préserver à la fois l'écosystème et la pérennité de la perliculture en Polynésie française.

5.5 ANNEXES

Projet Huîtres Sentinelles

Travaux menés par Maëva Goulais, Doctorante à l'Ifremer de Tahiti

Evaluation de l'impact de la pollution plastique sur l'état de santé des huîtres perlières

La perliculture est la deuxième ressource économique de la Polynésie Française, néanmoins c'est aussi une source importante de pollution plastique. En installant des huîtres dans 4 atolls différents dans l'archipel des Tuamotu, le projet a pour but de suivre pendant 6 mois l'état de santé des huîtres évoluant dans des lagons plus ou moins pollués par le plastique. Cela passe par plusieurs critères :

- Mesure de la croissance des huîtres
- Mesure de la mortalité
- Caractérisation des organes reproducteurs
- Suivi de la capacité des huîtres à faire face aux maladies

Les 4 atolls choisis sont :



Les points jaunes indiqués sur les cartes correspondent aux stations installées. A chacune de ces stations se trouvent 100 huîtres, *Pinctada margaritifera*, de 1 an et **non greffées**. Une équipe de l'Ifremer reviendra en novembre 2021 puis en mars 2022 (si les conditions sanitaires le permettent) afin de récolter les données nécessaires au suivi de l'état de santé de ces huîtres.

Si vous êtes intéressés par ce projet et que vous voulez me transmettre vos questions ou observations, n'hésitez pas à me joindre par mail à **maeva.goulais@ifremer.fr**

Annexe 1. *Document explicatif de la mission « Huître Sentinelles » envoyé aux Tavanas.*

6 DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES

6.1 PREAMBULE

Le plastique est devenu un matériau incontournable depuis près de 70 ans en offrant de nombreux avantages dans divers domaines. La perliculture n'est pas restée en marge de ce phénomène. Aujourd'hui, la quasi-totalité des infrastructures perlicoles sont en plastique (Crusot et al., 2023). L'essor rapide de la production perlicole dans les années 90, en réponse à l'engouement international pour les perles de culture tahitiennes, combiné à une mauvaise gestion des déchets, a conduit à une accumulation inquiétante de déchets dans les lagons et aux abords des atolls perlicoles (Andréfouët et al., 2014 ; Crusot et al., 2023; Gaertner-Mazouni et al., 2018; Gaertner-Mazouni & Rodriguez, 2017; IEOM, 2020). Or, le plastique englobe trois niveaux de toxicité : physique, chimique et biologique, ce qui en fait un polluant particulier qui devrait être évalué en conséquence. Récemment, la présence de plastique dans l'eau est entrée en considération dans les critères d'évaluation de la qualité des milieux (ASEAN, 2008). Mais pour l'heure, contrairement à d'autres polluants, il n'existe pas de seuils critiques définis de contamination d'un milieu en plastiques.

Les conséquences néfastes des plastiques perlicoles pour les huîtres perlières *P. margaritifera* ont déjà été démontrées en laboratoire (Gardon et al., 2020a, 2024). Néanmoins, la toxicité de ces plastiques sur d'autres organismes n'avait jamais été étudiée dans le conteste polynésien. Face au peu de données disponibles sur les implications multiples possibles par la présence de déchets générés par la perliculture pour les écosystèmes lagonaires, il était primordial de réaliser

une évaluation des risques liés à l'utilisation de plastiques perlicoles et de développer des outils de suivis adaptés aux écosystèmes tropicaux.

Inscrite dans ce contexte, cette thèse visait à (1) évaluer l'effet de la pollution chimique sur un panel diversifié d'organismes marins tropicaux, (2) étudier l'impact de la présence des plastiques perlicoles sur le compartiment bactérien, et (3) rechercher et identifier des bioindicateurs adaptés au suivi de l'état de pollution des lagons polynésiens par les plastiques. Les résultats obtenus ont permis d'apporter des outils de surveillance de la toxicité des matériaux utilisés en perliculture, de proposer des indicateurs biologiques à la surveillance de l'état des lagons et enfin d'avertir sur les défis futurs auxquels sera confrontée la filière perlicole polynésienne. L'objectif final est de guider les décideurs politiques dans la prise de mesures adaptées pour la protection des lagons polynésiens et la mise en place de mesures plus durables pour la perliculture.

6.2 EVALUATION DE LA TOXICITE DES MATERIAUX PERLICOLES : UNE ETAPE OBLIGATOIRE AVANT LEUR MISE EN EAU

Les tests de toxicité des plastiques perlicoles neufs réalisés au cours de cette thèse, ont permis de démontrer plusieurs choses. Premièrement, le pourcentage d'anomalies de développement larvaire des cinq espèces tropicales testées augmentait avec la gamme de concentration des lixiviats plastiques. Ainsi toutes les espèces testées se sont avérées sensibles à la présence des produits de lixiviation relargués par les plastiques perlicoles neufs. Cependant, la détermination des concentrations efficaces de plastique pour chaque espèce nous a permis de conclure que la sensibilité des larves dépendait de l'espèce considérée. Il a donc été possible de classer les espèces de la plus sensible à la moins sensible aux plastiques perlicoles, dans l'ordre on retrouve : *Holothuria whitmaei, Pinctada margaritifera, Tripneustes gratilla, Litopenaeus stylirostris,* et *Saccostrea cucullata.*

En outre, l'analyse chimique des lixiviats générés à partir des plastiques perlicoles neufs, a révélé de nombreuses différences de composition avec une précédente étude utilisant pourtant strictement le même protocole et les mêmes matériaux (Gardon et al., 2020a). D'autre part, une

autre étude réalisée par Margaux Crusot, pendant sa thèse, a également pointé du doigt des différences de toxicité entre les résultats obtenus en testant séparément les matériaux perlicoles (corde et collecteur) et ceux de Gardon et al., (2020a) qui avait étudié la toxicité de ces matériaux en mélange. Ainsi, la toxicité de matériaux plastiques testés à part ou bien en mélange peut varier (Gardon et al., 2020a ; manuscrit de thèse de Margaux Crusot). Ces résultats montrent que les produits de lixiviation et les tests de toxicité peuvent varier dans le temps, influencés par divers paramètres tels que l'origine et la nature des matériaux, la composition chimique des lixiviats, la fiabilité des analyses et des interprétations ou encore avec la qualité des lots de larves utilisées.

A noter également, que cette thèse a contribué à l'optimisation et parfois même la création de protocoles de tests toxicologiques adaptés à cinq espèces tropicales. En effet, les tests toxicologiques miniaturisés en microplaques n'avaient jusqu'à lors que très peu été développés pour des espèces tropicales. A ce jour, l'utilisation d'holothuries tropicales comme organismes modèles est même une première dans le domaine toxicologique. Grâce aux nombreux essais et ajustements apportés au cours des tests, un protocole optimal au développement des larves en condition *in vitro* est maintenant disponible pour les espèces suivantes : *Holothuria whitmaei, Pinctada margaritifera*, *Tripneustes gratilla*, *Litopenaeus stylirostris*, et *Saccostrea cucullata.* Ces connaissances pourront être valorisées lors de la réalisation de tests futurs sur les matériaux perlicoles afin d'identifier les molécules présentant un danger pour les organismes marins.

À la lumière de ces résultats, nous pouvons désormais établir une liste de recommandations pour évaluer de manière fiable la toxicité des matériaux plastiques et identifier les molécules dangereuses pour les organismes marins. Tout d'abord, il est essentiel de réaliser des lixiviats de plastiques en suivant un protocole standardisé. Malheureusement, ce point reste problématique, car aucune norme mondiale n'existe à ce sujet (Bolo & Préville, 2020; Gouin et al., 2019). Il serait donc nécessaire d'établir un protocole pouvant servir de référence à l'échelle locale. Le protocole utilisé lors de nos tests pourrait être proposé comme standard. Comme le montre nos tests toxicologiques, il est également crucial de réaliser ces tests sur plusieurs espèces modèles pour ne pas ignorer une toxicité potentielle liée à la sensibilité différentielle de chaque espèce vis-à-vis du ou des composés chimiques ciblés. Si un choix doit être fait, les avantages, discutés dans le chapitre 2 de ce manuscrit, des espèces *S. cucullata* et *H. whitmaei* en font des modèles à privilégier. Cependant, il est souhaitable de réaliser ces tests sur un panel varié d'espèces. De plus, ces tests toxicologiques doivent être effectués avec un nombre

suffisant de réplicas pour garantir la fiabilité des résultats. Il est également recommandé, si possible, que la lecture des plaques soit réalisée par plusieurs opérateurs afin de limiter les variations d'interprétation dues à un comptage subjectif. Si une toxicité est observée sur l'une des espèces modèles, des analyses plus approfondies doivent être effectuées. En cas de toxicité avérée, il est nécessaire d'identifier les molécules responsables ou les synergies de molécules pouvant provoquer des effets néfastes sur le développement larvaire (Dupraz et al., 2018, 2019; Sol Dourdin et al., 2023). Cela implique de tester séparément puis en combinaison tous les composés présents dans les lixiviats. Ce n'est qu'en suivant cette méthodologie stricte qu'il sera possible de déterminer la nature chimique et la concentration des molécules présentant un risque pour les organismes marins. L'étape suivante consistera à transmettre ces informations aux décideurs politiques pour la mise en place de réglementations visant à interdire l'importation et l'utilisation de matériaux aquacoles contenant des molécules identifiées comme dangereuses pour l'environnement marin. La mise en place de ces réglementations pourrait s'inspirer des cadres législatifs déjà existants, tels que le Registration, Evaluation and Authorization of Chemicals (REACH) en Europe (Rudén & Hansson, 2010), le Toxic Substances Control Act (TSCA) aux États-Unis (Krimsky, 2017), ou la Loi canadienne sur la protection de l'environnement (LCPE) au Canada (Scott, 2009). L'adoption de ces lois a permis le bannissement de polymères et additifs jugés dangereux tels que le bisphénol-A ou les phtalates qui ont été interdits dans l'UE et en Amérique du Nord (Conti et al., 2021). En s'appuyant sur ces modèles, il serait possible de renforcer la protection des écosystèmes marins en introduisant des exigences spécifiques à la Polynésie française pour les plastiques et autres matériaux aquacoles, afin de mieux évaluer et gérer les risques potentiels qu'ils posent à la biodiversité.

En parallèle de l'élaboration de réglementations strictes pour limiter l'impact des plastiques sur les écosystèmes marins, il est tout autant crucial de mettre en place des programmes de surveillance continue afin de détecter et de prévenir les effets nocifs de la pollution plastique sur les environnements sensibles, tels que les lagons polynésiens. Cela nous amène à considérer le développement d'espèces bioindicatrices pour une évaluation plus précise de l'état de pollution de ces écosystèmes, en particulier face aux limites des normes de toxicité actuelles qui ne prennent pas en compte les pollutions physique et biologique (Leistenschneider et al., 2023). Dans cette optique, des approches d'évaluation des risques environnementaux plus holistiques doivent être adoptées, incluant des bio essais normalisés et des indicateurs biologiques capables de révéler les effets complexes de la pollution plastique *in situ*.

6.3 EVALUATION DU POTENTIEL DES BACTERIES COMME ESPECES BIOINDICATRICES

La pollution plastique dans les lagons polynésiens pose un défi écologique majeur, avec des répercussions potentielles sur la biodiversité marine et les écosystèmes locaux. Face à l'urgence de cette crise environnementale, il est essentiel de développer des outils de surveillance robustes pour évaluer l'état de pollution et anticiper ses effets néfastes. L'une des solutions les plus prometteuses réside dans l'utilisation d'espèces bioindicatrices, capables de signaler les altérations environnementales de manière précoce. Les espèces bioindicatrices sont des organismes sensibles aux changements de leur environnement, dont la présence, l'abondance ou l'état de santé peuvent refléter l'état général de l'écosystème. Par exemple, des modifications dans la composition des communautés microbiennes peuvent être détectées bien avant que des signes visibles de détérioration n'apparaissent chez les coraux et autres organismes benthiques (Glasl et al., 2017). Cela peut permettre d'identifier rapidement les perturbations avant qu'elles n'aient des conséquences graves sur l'écosystème corallien global. Ces capacités de détection rapide des microbes constituent un avantage significatif par rapport aux méthodes de surveillance traditionnelles qui reposent principalement sur l'observation de la santé des macro-organismes coralliens. Ainsi, dans le contexte des lagons polynésiens, l'utilisation d'espèces bioindicatrices de la présence de plastiques pourrait servir d'alertes précoces en cas de dépassement de seuil de pollution néfaste pour la vie marine.

L'intégration de ces bioindicateurs nécessite toutefois une phase exploratoire en laboratoire, où des tests en conditions contrôlées fournissent des données essentielles pour leur application sur le terrain. Dans cette optique, des expériences en mésocosmes ont été menées. Les mésocosmes sont des aquariums en conditions contrôlées permettant de suivre l'impact de la variation d'un seul facteur sur les organismes présents et ainsi combler le fossé entre le laboratoire et le monde réel (Bruckner et al., 1995; Crossland & La Point, 1992; Odum, 1984). Dans notre étude, le paramètre étudié était la présence de plastiques perlicoles. L'effet d'un gradient de concentration de ces plastiques a été observé sur divers organismes et micro-organismes. Bien que la mise en place de ces mésocosmes marins ait été complexe et chronophage, cette expérience a révélé un lien entre les concentrations élevées de plastiques perlicoles et la surabondance de certains genres bactériens par rapport aux milieux ne contenant pas ou peu de plastiques. Cette

découverte inédite nous permet d'envisager plusieurs implications importantes. Premièrement, certaines des bactéries favorisées par les concentrations élevées de plastique pouvaient être pathogènes, posant ainsi un risque sanitaire significatif (Boettcher et al., 2005; Cooney et al., 2002; Fernandes et al., 2012; Lopez et al., 2022; Pantos et al., 2003; Rivas et al., 2013). De plus, si cette observation est confirmée *in situ*, le suivi de l'abondance de ces genres bactériens pourrait être utilisé comme un indicateur de la qualité des lagons, particulièrement en cas de contamination plastique élevée.

Pour approfondir cette approche, il est essentiel de valider ces bioindicateurs bactériens à travers des études *in situ*. Les expériences en conditions contrôlées ont fourni des preuves préliminaires, mais une validation sur le terrain est nécessaire pour confirmer la pertinence et la fiabilité de ces bioindicateurs dans des conditions environnementales réelles. Cela implique la mise en place d'études dans différents lagons où sont enregistrées différentes intensités d'activités perlicoles. Cela permettra de comparer les réponses bactériennes à divers niveaux de pollution plastique et d'autres stress environnementaux. La validation *in situ* permettra de déterminer si les changements d'abondance bactérienne observés en laboratoire se reflètent également dans les écosystèmes naturels, et d'évaluer leur utilité dans un contexte de surveillance continue.

Si cette hypothèse est validée, ces bactéries bioindicatrices pourront être intégrées dans des protocoles de suivi régulier utilisant des techniques telles que le séquençage de l'ADN environnemental. Celui-ci permet une analyse rapide et précise des communautés bactériennes présentes dans les échantillons d'eau, offrant ainsi une méthode non invasive pour surveiller les écosystèmes lagonaires. L'avantage de cette approche est sa capacité à détecter des changements subtils, dans la composition des communautés bactériennes mais également dans l'abondance des genres bactériens, bien avant que des altérations plus visibles des écosystèmes ne se produisent. En plus de la détection des genres bactériens spécifiques associés à la pollution plastique, l'ADN environnemental peut également être utilisé pour surveiller l'ensemble de la biodiversité microbienne, fournissant ainsi un aperçu global de l'état de l'écosystème.

L'intégration de ces bioindicateurs dans les plans de gestion environnementale des lagons nécessitera la standardisation des protocoles d'échantillonnage et d'analyse. Pour garantir la cohérence des données collectées et leur comparabilité à long terme, il est crucial de développer des protocoles standardisés qui définissent les méthodes d'échantillonnage, les conditions de

stockage et les procédures d'analyse. Ces standards permettront de générer des bases de données robustes, facilitant les comparaisons temporelles et spatiales entre les différents sites de surveillance. En outre, l'harmonisation des méthodes entre les différentes équipes de recherche et les gestionnaires locaux sera essentielle pour assurer la qualité et la fiabilité des informations recueillies.

Des recherches supplémentaires sur les mécanismes d'interaction entre les bactéries et les polluants plastiques seront également nécessaires pour comprendre les impacts écologiques à long terme. Bien que les études actuelles aient révélé des corrélations entre la présence de plastiques et l'abondance de certains genres bactériens, les mécanismes sous-jacents de ces interactions restent à élucider. Il sera important d'explorer comment les plastiques et les polluants associés influencent l'abondance bactérienne. Comprendre ces mécanismes pourra non seulement renforcer la fiabilité des bioindicateurs, mais aussi éclairer les stratégies de réduction de la pollution plastique et de restauration des écosystèmes affectés.

Si cette méthode est validée, la caractérisation de l'état des lagons par approche bactérienne serait un outil de surveillance de l'état des lagons simple à mettre en place (des prélèvements de quelques litres d'eau et des frottis ponctuels), évitant ainsi une logistique lourde et onéreuse.

6.4 EVALUATION DU POTENTIEL DES HUITRES PERLIERES COMME ESPECES BIOINDICATRICES

L'évaluation des huîtres perlières, *Pinctada margaritifera*, en tant que bioindicateur pour la surveillance des lagons impactés par la perliculture révèle des avantages et des limites significatives. L'étude menée, à travers le projet « Huîtres Sentinelles », a permis de mettre en évidence des différences notables dans les indices de condition des huîtres, en fonction des variations environnementales observées entre les quatre atolls différents de l'étude : Takapoto, Takaroa, Anaa et Tikehau. Ces résultats suggèrent que les huîtres perlières sont sensibles aux fluctuations de paramètres tels que la température et la concentration en chlorophylle. Cette sensibilité des huîtres à leur environnement immédiat renforce leur potentiel en tant qu'indicateur de la qualité écologique globale des lagons.

Cependant, l'utilisation des huîtres perlières comme bioindicateurs spécifiques de la pollution par les microplastiques comporte des incertitudes, notamment en raison de biais méthodologiques ayant conduit à la contamination de nombreux échantillons analysés au cours de cette thèse. Ces incertitudes soulignent les défis actuels liés au traitement des échantillons pour l'identification et la quantification des microparticules. De plus, l'absence de consensus mondial sur les bonnes pratiques à adopter pour ces analyses contribue à maintenir un flou dans ce domaine.

En dépit de ces soucis techniques, les résultats préliminaires obtenus lors du projet « Huîtres Sentinelles », indiquent que bien que toutes les huîtres échantillonnées contenaient des particules de plastique, aucune corrélation significative n'a pu être établie entre la contamination en microplastiques et les variations des indices de condition des huîtres. De plus, la découverte d'une corrélation négative entre la présence de particules de cellulose dans les tissus des huîtres et leur taux de croissance suggère que d'autres types de pollution, telles que les résidus de machines à laver ou les débris organiques, peuvent avoir des effets néfastes sur ces organismes. En outre il n'a pas été possible d'établir une corrélation significative entre les particules présentes dans la colonne d'eau et celles présentes dans les huîtres. Ces organismes filtreurs ayant la capacité de sélectionner finement les particules composant leur prise alimentaire, les particules ingérées ne seraient pas représentatives de la diversité et de la quantité des particules présentes dans leur milieu. Ces observations mettent en lumière les défis liés à l'utilisation des huîtres perlières comme bioindicateurs spécifiques des microplastiques, étant donné la complexité des sources de pollution et la variabilité des réponses biologiques.

Malgré ces limitations, les huîtres perlières offrent un potentiel prometteur en tant que bioindicateur intégré de la qualité des lagons, reflétant l'influence combinée de multiples facteurs naturels et anthropiques. Le suivi des indices de condition des huîtres pourrait permettre d'évaluer l'impact global des activités pesant sur les lagons, offrant ainsi un outil de surveillance continu.

Pour valider l'utilisation des huîtres perlières comme bioindicateur fiable, plusieurs perspectives de recherche et de surveillance doivent être envisagées. Premièrement, il est crucial de mener des études supplémentaires pour mieux comprendre les mécanismes par lesquels les huîtres interagissent avec les polluants présents dans leur environnement, en particulier les microplastiques et les particules de cellulose. Des analyses biochimiques plus sensibles

pourraient être explorées pour détecter des marqueurs spécifiques de stress environnemental chez les huîtres. Ensuite, l'intégration des huîtres perlières dans des programmes de surveillance à long terme nécessitera la mise en place de protocoles standardisés pour le suivi des indices de conditions des huîtres. Le suivi des animaux devra être complété avec des données environnementales nécessitant la mise en place de capteur de température et de chlorophylle ainsi que des caractérisations chimiques ponctuelles des lagons à travers l'utilisation de capteurs passifs comme les POCIS (Polar Organic Chemical Integrative Samplers) ou les SPMD (Semi Permeable Membrane Devices) en cas de contamination suspectée.

En conclusion, les huîtres perlières possèdent des caractéristiques qui les rendent potentiellement intéressantes pour évaluer la qualité des lagons polynésiens, mais leur utilisation comme bioindicateur spécifique des microplastiques reste à confirmer. Une approche combinée, incluant des mesures régulières des indices de condition des huîtres, des analyses environnementales et chimiques, pourrait offrir une méthode robuste pour la gestion durable des écosystèmes lagonaires en Polynésie française. Ces efforts permettront de mieux comprendre les dynamiques écologiques en jeu et d'assurer la pérennité de la perliculture, tout en protégeant la biodiversité et la santé des lagons.

L’intégration des bioindicateurs dans les stratégies de gestion environnementale permettrait non seulement de mieux comprendre l’impact des plastiques sur les écosystèmes marins, mais aussi d’informer et d’alerter les décideurs publics de manière proactive. En développant un réseau de surveillance basé sur ces espèces, il serait possible d’envisager un avenir pérenne aux activité perlicoles tout en préservant la richesse biologique exceptionnelle des lagons polynésiens. En combinant cette approche avec des efforts de réduction de l’utilisation des plastiques, d’interdiction d’importation et d’utilisation de plastiques aquacoles contenant des additifs dangereux, ainsi que des campagnes de récupération des déchets historiques et la mise en place d’une filière de gestion pour les nouveaux déchets perlicoles produits annuellement, il serait possible de limiter les effets négatifs de la pollution plastique sur les lagons polynésiens et de préserver ces écosystèmes uniques pour les générations futures.

7 REFERENCES

7.1 BIBLIOGRAPHIE

A.Blaga. (1975). Les plastiques thermodurcissables. *NRC Publications Record*, 1–15.

Abdullah, N. A., Sainorudin, M. H., Rani, M. S. A., Mohammad, M., Kadir, N. H. A., & Asim, N. (2021). Structure and thermal properties of microcrystalline cellulose extracted from coconut husk fiber. *Polimery/Polymers*, *66*(3), 187–192. https://doi.org/10.14314/POLIMERY.2021.3.4

Adessi, L. (1999). Les principaux bivalves de l'atoll de Takapoto (Polynésie française) sont-ils des compétiteurs trophiques de l'huıtre perliere? Approche écophysiologique (Doctoral dissertation, PhD dissertation, Université de la Polynésie française).

Agudo, N. (2006). Sandfish Hatchery. In *Geographical* (Vol. 19, Issue 3). http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12880789

Ali, S. S., Elsamahy, T., Koutra, E., Kornaros, M., El-Sheekh, M., Abdelkarim, E. A., Zhu, D., & Sun, J. (2021). Degradation of conventional plastic wastes in the environment: A review on current status of knowledge and future perspectives of disposal. *Science of the Total Environment*, *771*, 144719. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144719

Allam, B., & Espinosa, E. P. (2015). Mucosal immunity in mollusks. In *Mucosal Health in Aquaculture*. Elsevier Inc. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417186-2.00012-1

Alomar, C., Sureda, A., Capó, X., Guijarro, B., Tejada, S., & Deudero, S. (2017). Microplastic ingestion by Mullus surmuletus Linnaeus, 1758 fish and its potential for causing oxidative stress. *Environmental Research*, *159*(February), 135–142. https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.07.043

Amenábar Cristi, M., Holzapfel, C., Nehls, M., De Veer, D., Gonzalez, C., Holtmann, G., Honorato-Zimmer, D., Kiessling, T., Muñoz, A. L., Reyes, S. N., Nuñez, P., Sepulveda, J. M., Vásquez, N., & Thiel, M. (2020). The rise and demise of plastic shopping bags in Chile – Broad and informal coalition supporting ban as a first step to reduce single-use plastics. *Ocean and Coastal Management*, *187*(December 2019). https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2019.105079

Aminah, I. S., & Ikejima, K. (2023). Potential sources of microplastic contamination in laboratory analysis and a protocol for minimising contamination. *Environmental Monitoring and Assessment*, *195*(7), 1–9. https://doi.org/10.1007/s10661-023-11410-7

Andrady, A. L. (2017). The plastic in microplastics: A review. *Marine Pollution Bulletin*, *119*(1), 12–22. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.01.082

André, L. V., Chinain, M., Gatti, C. M. i., Liao, V., Van Wynsberge, S., Tedesco, P., & Andréfouët, S. (2022). A systematic prioritization approach for identifying suitable pearl oyster restocking zones following a mass mortality event in Takaroa Atoll, French Polynesia. *Marine Pollution Bulletin*, *176*(September 2021). https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.113472

Andréfouët, S., Charpy, L., Lo-Yat, A., & Lo, C. (2012). Recent research for pearl oyster aquaculture management in French Polynesia. *Marine Pollution Bulletin*, *65*(10–12), 407–414. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.06.021

Andréfouët, S., Dutheil, C., Menkes, C. E., Bador, M., & Lengaigne, M. (2015). Mass mortality events in atoll lagoons: Environmental control and increased future vulnerability. *Global Change Biology*, *21*(1), 195–205. https://doi.org/10.1111/gcb.12699

Andréfouët, S., Gilbert, A., Yan, L., Remoissenet, G., Payri, C., & Chancerelle, Y. (2005). The remarkable population size of the endangered clam *Tridacna maxima* assessed in Fangatau Atoll (Eastern Tuamotu, French Polynesia) using in situ and remote sensing data. *ICES Journal of Marine Science*, *62*(6), 1037–1048. https://doi.org/10.1016/j.icesjms.2005.04.006

Andréfouët, S., Thomas, Y., Dumas, F., & Lo, C. (2016). Revisiting wild stocks of black lip oyster *Pinctada margaritifera* in the Tuamotu Archipelago: The case of Ahe and Takaroa atolls and

implications for the cultured pearl industry. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, *182*, 243–253. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2016.06.013

Andréfouët, S., Thomas, Y., & Lo, C. (2014). Amount and type of derelict gear from the declining black pearl oyster aquaculture in Ahe atoll lagoon, French Polynesia. *Marine Pollution Bulletin*, *83*(1), 224–230. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.03.048

Apprill, A. (2017). Marine animal microbiomes: Toward understanding host-microbiome interactions in a changing ocean. *Frontiers in Marine Science*, *4*(JUL), 1–9. https://doi.org/10.3389/fmars.2017.00222

Apprill, A., Mcnally, S., Parsons, R., & Weber, L. (2015). Minor revision to V4 region SSU rRNA 806R gene primer greatly increases detection of SAR11 bacterioplankton. *Aquatic Microbial Ecology*, *75*(2), 129–137. https://doi.org/10.3354/ame01753

Araujo, C. F., Nolasco, M. M., Ribeiro, A. M. P., & Ribeiro-Claro, P. J. A. (2018). Identification of microplastics using Raman spectroscopy: Latest developments and future prospects. *Water Research*, *142*, 426–440. https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.05.060

Arossa, S., Martin, C., Rossbach, S., & Duarte, C. M. (2019). Microplastic removal by Red Sea giant clam (*Tridacna maxima*). *Environmental Pollution*, *252*, 1257–1266. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.05.149

Ashlock, P. D. (1971). Monophyly and Associated Terms. *Systematic Zoology*, *20*(1), 63. https://doi.org/10.2307/2412223

Avery-Gomm, S., Provencher, J. F., Liboiron, M., Poon, F. E., & Smith, P. A. (2018). Plastic pollution in the Labrador Sea: An assessment using the seabird northern fulmar *Fulmarus glacialis* as a biological monitoring species. *Marine Pollution Bulletin*, *127*(September 2017), 817–822. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.10.001

Awabdi, D. R., Siciliano, S., & Di Beneditto, A. P. M. (2013). First record of killer whales (*Orcinus orca*) contents of juvenile green turtles, *Chelonia mydas*, in Rio de Janeiro, south-eastern Brazil. *Marine Biodiversity Records*, *6*, 1–6. https://doi.org/10.1017/S1755267212001029

Baini, M., Martellini, T., Cincinelli, A., Campani, T., Minutoli, R., Panti, C., Finoia, M. G., & Fossi, M. C. (2017). First detection of seven phthalate esters (PAEs) as plastic tracers in superficial

neustonic/planktonic samples and cetacean blubber. *Analytical Methods*, *9*(9), 1512–1520. https://doi.org/10.1039/c6ay02674e

Bakir, A., Rowland, S. J., & Thompson, R. C. (2014). Enhanced desorption of persistent organic pollutants from microplastics under simulated physiological conditions. *Environmental Pollution*, *185*, 16–23. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.10.007

Barbosa Solomieu, V., Renault, T., & Travers, M. A. (2015). Mass mortality in bivalves and the intricate case of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Journal of Invertebrate Pathology*, *131*, 2–10. https://doi.org/10.1016/j.jip.2015.07.011

Barboza, L. G. A., Dick Vethaak, A., Lavorante, B. R. B. O., Lundebye, A. K., & Guilhermino, L. (2018). Marine microplastic debris: An emerging issue for food security, food safety and human health. *Marine Pollution Bulletin*, *133*(June), 336–348. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.05.047

Barillé, L., Lerouxel, A., Dutertre, M., Haure, J., Barillé, A. L., Pouvreau, S., & Alunno-Bruscia, M. (2011). Growth of the Pacific oyster (Crassostrea gigas) in a high-turbidity environment: Comparison of model simulations based on scope for growth and dynamic energy budgets. *Journal of Sea Research*, *66*(4), 392–402. https://doi.org/10.1016/j.seares.2011.07.004

Barnes, D. K. A., Galgani, F., Thompson, R. C., & Barlaz, M. (2009). Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *364*(1526), 1985–1998. https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0205

Bartelt-Hunt, S. L., Snow, D. D., Damon-Powell, T., Brown, D. L., Prasai, G., Schwarz, M., & Kolok, A. S. (2011). Quantitative evaluation of laboratory uptake rates for pesticides, pharmaceuticals, and steroid hormones using POCIS. *Environmental Toxicology and Chemistry*, *30*(6), 1412–1420. https://doi.org/10.1002/etc.514

Batel, A., Linti, F., Scherer, M., Erdinger, L., & Braunbeck, T. (2016). Transfer of benzo[a]pyrene from microplastics to Artemia nauplii and further to zebrafish via a trophic food web experiment: CYP1A induction and visual tracking of persistent organic pollutants. *Environmental Toxicology and Chemistry*, *35*(7), 1656–1666. https://doi.org/10.1002/etc.3361

Beaumont, N. J., Aanesen, M., Austen, M. C., Börger, T., Clark, J. R., Cole, M., Hooper, T., Lindeque, P. K., Pascoe, C., & Wyles, K. J. (2019). Global ecological, social and economic

impacts of marine plastic. In *Marine Pollution Bulletin* (Vol. 142, pp. 189–195). https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.03.022

Beaz-Hidalgo, R., Balboa, S., Romalde, J. L., & Figueras, M. J. (2010). Diversity and pathogenecity of Vibrio species in cultured bivalve molluscs. *Environmental Microbiology Reports*, *2*(1), 34–43. https://doi.org/10.1111/j.1758-2229.2010.00135.x

Bell, J. D., Ganachaud, A., Gehrke, P. C., Griffiths, S. P., Hobday, A. J., Hoegh-Guldberg, O., Johnson, J. E., Le Borgne, R., Lehodey, P., Lough, J. M., Matear, R. J., Pickering, T. D., Pratchett, M. S., Gupta, A. Sen, Senina, I., & Waycott, M. (2013). Mixed responses of tropical Pacific fisheries and aquaculture to climate change. *Nature Climate Change*, *3*(6), 591–599. https://doi.org/10.1038/nclimate1838

Bellas, J., & Gil, I. (2020). Polyethylene microplastics increase the toxicity of chlorpyrifos to the marine copepod *Acartia tonsa*. *Environmental Pollution*, *260*, 114059. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114059

Beloe, C. J., Browne, M. A., & Johnston, E. L. (2022). Plastic Debris As a Vector for Bacterial Disease: An Interdisciplinary Systematic Review. *Environmental Science and Technology*, *56*(5), 2950–2958. https://doi.org/10.1021/acs.est.1c05405

Bergmann, M., Gutow, L., & Klages, M. (2015). Marine anthropogenic litter. In *Marine Anthropogenic Litter*. https://doi.org/10.1007/978-3-319-16510-3

Bertucci, J. I., & Bellas, J. (2021). Combined effect of microplastics and global warming factors on early growth and development of the sea urchin (*Paracentrotus lividus*). *Science of the Total Environment*, *782*, 146888. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146888

Bessa, F., Barría, P., Neto, J. M., Frias, J. P. G. L., Otero, V., Sobral, P., & Marques, J. C. (2018). Occurrence of microplastics in commercial fish from a natural estuarine environment. *Marine Pollution Bulletin*, *128*(January), 575–584. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.01.044

Besseling, E., Foekema, E. M., Van Franeker, J. A., Leopold, M. F., Kühn, S., Bravo Rebolledo, E. L., Heße, E., Mielke, L., IJzer, J., Kamminga, P., & Koelmans, A. A. (2015). Microplastic in a macro filter feeder: Humpback whale *Megaptera novaeangliae*. *Marine Pollution Bulletin*, *95*(1), 248–252. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.04.007

Bhatia, H., Kumar, A., Chapman, J. C., & Mclaughlin, M. J. (2014). Long-term exposures to di-n-butyl phthalate inhibit body growth and impair gonad development in juvenile Murray rainbowfish (*Melanotaenia fluviatilis*). *Journal of Applied Toxicology*, *35*(7), 806–816. https://doi.org/10.1002/jat.3076

Binet, M. T., Reichelt-Brushett, A., McKnight, K., Golding, L. A., Humphrey, C., & Stauber, J. L. (2023). Adult Corals Are Uniquely More Sensitive to Manganese Than Coral Early-Life Stages. *Environmental Toxicology and Chemistry*, *42*(6), 1359–1370. https://doi.org/10.1002/etc.5618

Bionaz, O., Le Gendre, R., Liao, V., & Andréfouët, S. (2022). Natural stocks of *Pinctada margaritifera* pearl oysters in Tuamotu and Gambier lagoons: New assessments, temporal evolutions, and consequences for the French Polynesia pearl farming industry. *Marine Pollution Bulletin*, *183*(June). https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.114055

Black, J. A., Birge, W. J., Westerman, A. G., & Francis, P. C. (1983). Comparative aquatic toxicology of aromatic hydrocarbons. *Toxicological Sciences*, *3*(5), 353–358. https://doi.org/10.1093/toxsci/3.5.353

Boettcher, K. J., Geaghan, K. K., Maloy, A. P., & Barber, B. J. (2005). Roseovarius crassostreae sp. nov., a member of the *Roseobacter* clade and the apparent cause of juvenile oyster disease (JOD) in cultured Eastern oysters. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *55*(4), 1531–1537. https://doi.org/10.1099/ijs.0.63620-0

Bokulich, N. A., Kaehler, B. D., Rideout, J. R., Dillon, M., Bolyen, E., Knight, R., Huttley, G. A., & Gregory Caporaso, J. (2018). Optimizing taxonomic classification of marker-gene amplicon sequences with QIIME 2's q2-feature-classifier plugin. *Microbiome*, *6*(1), 1–17. https://doi.org/10.1186/s40168-018-0470-z

Bolo, P., & Préville, A. (2020). *Pollution plastique : une bombe à retardement ?* 326.

Bolyen, E., Rideout, J. R., Dillon, M. R., Bokulich, N. A., Abnet, C. C., Al-Ghalith, G. A., Alexander, H., Alm, E. J., Arumugam, M., Asnicar, F., Bai, Y., Bisanz, J. E., Bittinger, K., Brejnrod, A., Brislawn, C. J., Brown, C. T., Callahan, B. J., Caraballo-Rodríguez, A. M., Chase, J., … Caporaso, J. G. (2019). Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nature Biotechnology*, *37*(8), 852–857. https://doi.org/10.1038/s41587-019-0209-9

Bonaventura, R., Zito, F., Morroni, L., Pellegrini, D., Regoli, F., & Pinsino, A. (2021). Development and validation of new analytical methods using sea urchin embryo bioassay to evaluate dredged marine sediments. *Journal of Environmental Management*, *281*(November 2020), 111862. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111862

Brooks, A. L., Wang, S., & Jambeck, J. R. (2018). The Chinese import ban and its impact on global plastic waste trade. *Science Advances*, *4*(6), 1–7. https://doi.org/10.1126/sciadv.aat0131

Brown, B. E. (1997). Coral bleaching: Causes and consequences. *Coral Reefs*, *16*(SUPPL. 1), 129–138. https://doi.org/10.1007/s003380050249

Browne, Mark A., Dissanayake, A., Galloway, T. S., Lowe, D. M., & Thompson, R. C. (2008). Ingested microscopic plastic translocates to the circulatory system of the mussel, *Mytilus edulis* (L.). *Environmental Science and Technology*, *42*(13), 5026–5031. https://doi.org/10.1021/es800249a

Browne, Mark Anthony, Crump, P., Niven, S. J., Teuten, E., Tonkin, A., Galloway, T., & Thompson, R. (2011). Accumulation of microplastic on shorelines woldwide: Sources and sinks. *Environmental Science and Technology*, *45*(21), 9175–9179. https://doi.org/10.1021/es201811s

Browne, Mark Anthony, Niven, S. J., Galloway, T. S., Rowland, S. J., & Thompson, R. C. (2013). Microplastic moves pollutants and additives to worms, reducing functions linked to health and biodiversity. *Current Biology*, *23*(23), 2388–2392. https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.10.012

Browne, Mark Anthony, Underwood, A. J., Chapman, M. G., Williams, R., Thompson, R. C., & Van Franeker, J. A. (2015). Linking effects of anthropogenic debris to ecological impacts. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *282*(1807). https://doi.org/10.1098/rspb.2014.2929

Bruckner, A., Wright, J., Kampichler, C., Bauer, R., & Kandeler, E. (1995). A method of preparing mesocosms for assessing complex biotic processes in soils. *Biology and Fertility of Soils*, *19*(2–3), 257–262. https://doi.org/10.1007/BF00336169

Bruyère, O., Chauveau, M., Le Gendre, R., Liao, V., & Andréfouët, S. (2023). Larval dispersal of pearl oysters Pinctada margaritifera in the Gambier Islands (French Polynesia) and exploring options for adult restocking using in situ data and numerical modelling. *Marine Pollution Bulletin*, *192*(May). https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2023.115059

Bruyère, O., Le Gendre, R., Liao, V., & Andréfouët, S. (2024). Lagoon hydrodynamics of pearl farming islands: The case of Gambier (French Polynesia). *Earth System Science Data*, *16*(1), 667–679. https://doi.org/10.5194/essd-16-667-2024

Cabral, H., Fonseca, V., Sousa, T., & Leal, M. C. (2019). Synergistic effects of climate change and marine pollution: An overlooked interaction in coastal and estuarine areas. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *16*(15), 1–17. https://doi.org/10.3390/ijerph16152737

Callahan, B. J., McMurdie, P. J., Rosen, M. J., Han, A. W., Johnson, A. J. A., & Holmes, S. P. (2016). DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods*, *13*(7), 581–583. https://doi.org/10.1038/nmeth.3869

Campbell, K. M., Gulledge, J., Mcneill, J. R., Podesta, J., Ogden, P., Fuerth, L., Woolsey, R. J., Lennon, A. T. J., Smith, J., Weitz, R., & Mix, D. (2007). The Age of Consequences: The Foreign Policy and National Security Implications of Global Climate Change Project Co-Directors Center for StrategiC & international StudieS. *Center for Strategic and Informational Studies*.

Cao, R., Liu, Y., Wang, Q., Zhang, Q., Yang, D., Liu, H., Qu, Y., & Zhao, J. (2018). The impact of ocean acidification and cadmium on the immune responses of Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Fish and Shellfish Immunology*, *81*(April), 456–462. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.07.055

Caron, A. G. M., Thomas, C. R., Berry, K. L. E., Motti, C. A., Ariel, E., & Brodie, J. E. (2018). Ingestion of microplastic debris by green sea turtles (*Chelonia mydas*) in the Great Barrier Reef: Validation of a sequential extraction protocol. *Marine Pollution Bulletin*, *127*(January), 743–751. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.12.062

Carson, H. S., Nerheim, M. S., Carroll, K. A., & Eriksen, M. (2013). The plastic-associated microorganisms of the North Pacific Gyre. *Marine Pollution Bulletin*, *75*(1–2), 126–132. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.07.054

Catarino, A. I., Thompson, R., Sanderson, W., & Henry, T. B. (2017). Development and optimization of a standard method for extraction of microplastics in mussels by enzyme digestion of soft tissues. *Environmental Toxicology and Chemistry*, *36*(4), 947–951. https://doi.org/10.1002/etc.3608

Chávez-Villalba, J., Soyez, C., Aurentz, H., & Le Moullac, G. (2013). Physiological responses of

female and male black-lip pearl oysters (*Pinctada margaritifera*) to different temperatures and concentrations of food. *Aquatic Living Resources*, *26*(3), 263–271. https://doi.org/10.1051/alr/2013059

Chiba, S., Saito, H., Fletcher, R., Yogi, T., Kayo, M., Miyagi, S., Ogido, M., & Fujikura, K. (2018). Human footprint in the abyss: 30 year records of deep-sea plastic debris. *Marine Policy*, *96*(August 2017), 204–212. https://doi.org/10.1016/j.marpol.2018.03.022

Çiftbudak, Ö. F., Aslan, E., Atabay, H., Tolun, L., Balkıs, N. Ç., & Yeşilot, S. (2024). Investigation of organic micropollutant pollution in İzmit Bay: a comparative study of passive sampling and instantaneous sampling techniques. *Environmental Monitoring and Assessment*, *196*(5). https://doi.org/10.1007/s10661-024-12583-5

Clara, M., Windhofer, G., Hartl, W., Braun, K., Simon, M., Gans, O., Scheffknecht, C., & Chovanec, A. (2010). Occurrence of phthalates in surface runoff, untreated and treated wastewater and fate during wastewater treatment. *Chemosphere*, *78*(9), 1078–1084. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.12.052

Cognie, B., Barillé, L., & Rincé, Y. (2001). Selective feeding of the oyster *Crassostrea gigas* fed on a natural microphytobenthos assemblage. *Estuaries*, *24*(1), 126–134. https://doi.org/10.2307/1352819

Cole, M., Lindeque, P., Fileman, E., Halsband, C., & Galloway, T. S. (2015). The impact of polystyrene microplastics on feeding, function and fecundity in the marine copepod *Calanus helgolandicus*. *Environmental Science and Technology*, *49*(2), 1130–1137. https://doi.org/10.1021/es504525u

Cole, M., Lindeque, P., Halsband, C., & Galloway, T. S. (2011). Microplastics as contaminants in the marine environment: A review. *Marine Pollution Bulletin*, *62*(12), 2588–2597. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.09.025

Cole, M., Lindeque, P. K., Fileman, E., Clark, J., Lewis, C., Halsband, C., & Galloway, T. S. (2016). Microplastics Alter the Properties and Sinking Rates of Zooplankton Faecal Pellets. *Environmental Science and Technology*, *50*(6), 3239–3246. https://doi.org/10.1021/acs.est.5b05905

Cole, V. J., Parker, L. M., O'Connor, S. J., O'Connor, W. A., Scanes, E., Byrne, M., & Ross, P. M.

(2016). Effects of multiple climate change stressors: ocean acidification interacts with warming, hyposalinity, and low food supply on the larvae of the brooding flat oyster *Ostrea angasi*. *Marine Biology*, *163*(5). https://doi.org/10.1007/s00227-016-2880-4

Collard, F., Gilbert, B., Compère, P., Eppe, G., Das, K., Jauniaux, T., & Parmentier, E. (2017). Microplastics in livers of European anchovies (*Engraulis encrasicolus*, L.). *Environmental Pollution*, *229*, 1000–1005. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.07.089

Conti, I., Simioni, C., Varano, G., Brenna, C., Costanzi, E., & Neri, L. M. (2021). Legislation to limit the environmental plastic and microplastic pollution and their influence on human exposure. *Environmental Pollution*, *288*(June), 117708. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117708

Conway, J. R., Lex, A., & Gehlenborg, N. (2017). UpSetR: An R package for the visualization of intersecting sets and their properties. *Bioinformatics*, *33*(18), 2938–2940. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx364

Cooney, R. P., Pantos, O., Le Tissier, M. D. A., Barer, M. R., O'Donnell, A. G., & Bythell, J. C. (2002). Characterization of the bacterial consortium associated with black band disease in coral using molecular microbiological techniques. *Environmental Microbiology*, *4*(7), 401–413. https://doi.org/10.1046/j.1462-2920.2002.00308.x

COUR DES COMPTES. (2024a). *Chapitre introductif*. 7–45. https://doi.org/10.1484/m.ssent-eb.4.118738

COUR DES COMPTES. (2024b). RAPPORT. *RAPPORT PUBLIC ANNUEL 2024*.

Crossland, N. O., & La Point, T. W. (1992). The design of mesocosm experiments. *Environmental Toxicology and Chemistry*, *11*(1), 1–4. https://doi.org/10.1002/etc.5620110101

Crusot, M., Gaertner, J.-C., Rodriguez, T., Lo, C., & Gaertner-Mazouni, N. (2023). Assessment of plastic waste generated by the aquaculture industry: The case study of pearl farming in French Polynesia. *Journal of Cleaner Production*, *425*(September), 138902. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2023.138902

Crusot, M., Lo, C., & Gaertner-Mazouni, N. (2021). Assessment of an alternative Pinctada margaritifera spat collector in French Polynesia. *Aquaculture Reports*, *20*. https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100751

Dang, H., & Lovell, C. R. (2016). Microbial Surface Colonization and Biofilm Development in Marine Environments. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, *80*(1), 91–138. https://doi.org/10.1128/mmbr.00037-15

DCE. (2000). Directive 2000/60/CE du Parlement européen et du Conseil du 23 octobre 2000 établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau. *Journal Officiel Des Communautés Européennes Du 22.12.2000*, *7*, 72 p. http://eur-lex.europa.eu/resource.html?uri=cellar:5c835afb-2ec6-4577-bdf8-756d3d694eeb.0001.02/DOC_1&format=PDF

De Felice, B., Sabatini, V., Antenucci, S., Gattoni, G., Santo, N., Bacchetta, R., Ortenzi, M. A., & Parolini, M. (2019). Polystyrene microplastics ingestion induced behavioral effects to the cladoceran *Daphnia magna*. *Chemosphere*, *231*, 423–431. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.05.115

De Tender, C. A., Devriese, L. I., Haegeman, A., Maes, S., Ruttink, T., & Dawyndt, P. (2015). Bacterial Community Profiling of Plastic Litter in the Belgian Part of the North Sea. *Environmental Science and Technology*, *49*(16), 9629–9638. https://doi.org/10.1021/acs.est.5b01093

De Tender, C., Devriese, L. I., Haegeman, A., Maes, S., Vangeyte, J., Cattrijsse, A., Dawyndt, P., & Ruttink, T. (2017). Temporal Dynamics of Bacterial and Fungal Colonization on Plastic Debris in the North Sea. *Environmental Science and Technology*, *51*(13), 7350–7360. https://doi.org/10.1021/acs.est.7b00697

Deonie Allen, Steve Allen, Sajjad Abbasi, Alex Baker, Melanie Bergmann, Janice Brahney, Tim Butler, Robert A. Duce, Sabine Echhardt, Nikolaos Evangeliou, Tim Jickells, Maria Kanakidou, Peter Kershaw, Paolo Laj1, Joseph Levermore, Daoji Li1, Peter Liss, Ka, S. W. (2022). Micro- and nano-plastics in the marine-atmosphere environment. *Nature Reviews Earth & Environment*, 1–30.

Détrée, C., & Gallardo-Escárate, C. (2018). Single and repetitive microplastics exposures induce immune system modulation and homeostasis alteration in the edible mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Fish and Shellfish Immunology*, *83*(September), 52–60. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.09.018

Détrée, C., Labbé, C., Paul-Pont, I., Prado, E., El Rakwe, M., Thomas, L., Delorme, N., Le Goïc, N.,

& Huvet, A. (2023). On the horns of a dilemma: Evaluation of synthetic and natural textile microfibre effects on the physiology of the pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Environmental Pollution*, *331*(January). https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.121861

Devriese, L. I., van der Meulen, M. D., Maes, T., Bekaert, K., Paul-Pont, I., Frère, L., Robbens, J., & Vethaak, A. D. (2015). Microplastic contamination in brown shrimp (*Crangon crangon*, Linnaeus 1758) from coastal waters of the Southern North Sea and Channel area. *Marine Pollution Bulletin*, *98*(1–2), 179–187. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.06.051

Dey, A., Dhumal, C. V., Sengupta, P., Kumar, A., Pramanik, N. K., & Alam, T. (2021). Challenges and possible solutions to mitigate the problems of single-use plastics used for packaging food items: a review. *Journal of Food Science and Technology*, *58*(9), 3251–3269. https://doi.org/10.1007/s13197-020-04885-6

Ding, J., Sun, C., He, C., Li, J., Ju, P., & Li, F. (2021). Microplastics in four bivalve species and basis for using bivalves as bioindicators of microplastic pollution. *Science of the Total Environment*, *782*, 146830. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146830

do Amaral, V. S., Simone, L. R. L., de Souza Tâmega, F. T., Barbieri, E., Calazans, S. H., Coutinho, R., & Spotorno-Oliveira, P. (2020). New records of the non-indigenous oyster Saccostrea cucullata (Bivalvia: Ostreidae) from the southeast and south Brazilian coast. *Regional Studies in Marine Science*, *33*, 100924. https://doi.org/10.1016/j.rsma.2019.100924

Dobson, F. S., Becker, P. H., Arnaud, C. M., Bouwhuis, S., & Charmantier, A. (2017). Plasticity results in delayed breeding in a long-distant migrant seabird. *Ecology and Evolution*, *7*(9), 3100–3109. https://doi.org/10.1002/ece3.2777

Draper, N. R. (1998). Applied regression analysis. McGraw-Hill. Inc.

DRM. (2015). Rapport de repérage et d'évaluation des déchets immergés identification des Hoa à curer, lagon de Takaroa, Référence : BC n ° 28469 du 23 novembre 2015 Objet : Repérage / Evaluation quantitative des déchets immergées Nature de l ' intervent. 1–22.DRM. (2018). *Levé bathymétrique et cartographie des déchets perlicoles du lagon de Takapoto (archipel des Tuamotu)*.

DRM. (2019). *Nettoyage, empaquetage et rapatriement à Tahiti et recyclage en filière existante des déchets perlicoles de Mangareva actuellement stockés sur le terrain de la commune de Rikitea*.

DRM. (2022). *DRM (Direction des Ressources Marines) (2022)*.

Du, Y., Liu, X., Dong, X., & Yin, Z. (2022). A review on marine plastisphere: biodiversity, formation, and role in degradation. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, *20*, 975–988. https://doi.org/10.1016/j.csbj.2022.02.008

Duncan, E. M., Botterell, Z. L. R., Broderick, A. C., Galloway, T. S., Lindeque, P. K., Nuno, A., & Godley, B. J. (2017). A global review of marine turtle entanglement in anthropogenic debris: A baseline for further action. *Endangered Species Research*, *34*, 431–448. https://doi.org/10.3354/esr00865

Dupraz, V., Ménard, D., Akcha, F., Budzinski, H., & Stachowski-Haberkorn, S. (2019). Toxicity of binary mixtures of pesticides to the marine microalgae *Tisochrysis lutea* and *Skeletonema marinoi*: Substance interactions and physiological impacts. *Aquatic Toxicology*, *211*(April), 148–162. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2019.03.015

Dupraz, V., Stachowski-Haberkorn, S., Ménard, D., Limon, G., Akcha, F., Budzinski, H., & Cedergreen, N. (2018). Combined effects of antifouling biocides on the growth of three marine microalgal species. *Chemosphere*, *209*, 801–814. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.06.139

Dussud, C., Hudec, C., George, M., Fabre, P., Higgs, P., Bruzaud, S., Delort, A. M., Eyheraguibel, B., Meistertzheim, A. L., Jacquin, J., Cheng, J., Callac, N., Odobel, C., Rabouille, S., & Ghiglione, J. F. (2018). Colonization of non-biodegradable and biodegradable plastics by marine microorganisms. *Frontiers in Microbiology*, *9*(JUL), 1–13. https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01571

EJ Carpenter, SJ Anderson, GR Harvey, HP Miklas, BB Peck. (1972). Polystyrene spherules in coastal waters. *Science*, *178*(4062), 750–753. https://doi.org/10.1126/science.178.4062.750

Ellen MacArthur Foundation. (2017). *Pour une nouvelle économie des plastiques*. 73. https://www.ellenmacarthurfoundation.org/publications/the-new-plastics-economy-rethinking-the-future-of-plastics-catalysing-action

Eriksen, M., Lebreton, L. C. M., Carson, H. S., Thiel, M., Moore, C. J., Borerro, J. C., Galgani, F., Ryan, P. G., & Reisser, J. (2014). Plastic Pollution in the World's Oceans: More than 5 Trillion Plastic Pieces Weighing over 250,000 Tons Afloat at Sea. *PLoS ONE*, *9*(12), 1–15.

https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111913

Erni-Cassola, G., Zadjelovic, V., Gibson, M. I., & Christie-Oleza, J. A. (2019). Distribution of plastic polymer types in the marine environment; A meta-analysis. *Journal of Hazardous Materials*, *369*(November 2018), 691–698. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.02.067

Espinosa, E. P., & Allam, B. (2018). Reverse genetics demonstrate the role of mucosal C-type lectins in food particle selection in the oyster *Crassostrea virginica*. *Journal of Experimental Biology*, *221*(6). https://doi.org/10.1242/jeb.174094

Europ, C., Bruxelles, E., La, R. D. E., Au, C., Europ, P., & Conseil, E. (2020). *FR Rapport sur la mise en œuvre de la directive - cadre « stratégie pour le milieu marin »*.

F.Azam, A. Z. W. (2004). *Microbes, Molecules, and Marine Ecosystems*. *March*, 1622–1625.

Farrell, P., & Nelson, K. (2013). Trophic level transfer of microplastic: *Mytilus edulis* (L.) to *Carcinus maenas* (L.). *Environmental Pollution*, *177*, 1–3. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.01.046

Fernandes, N., Steinberg, P., Rusch, D., Kjelleberg, S., & Thomas, T. (2012). Community Structure and Functional Gene Profile of Bacteria on Healthy and Diseased Thalli of the Red Seaweed *Delisea pulchra*. *PLoS ONE*, *7*(12), 1–8. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0050854

Ferreira, P., Fonte, E., Soares, M. E., Carvalho, F., & Guilhermino, L. (2016). Effects of multi-stressors on juveniles of the marine fish *Pomatoschistus microps*: Gold nanoparticles, microplastics and temperature. *Aquatic Toxicology*, *170*, 89–103. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2015.11.011

Folt, C. L., Chen, C. Y., Moore, M. V., & Burnaford, J. (1999). Synergism and antagonism among multiple stressors. *Limnology and Oceanography*, *44*(3 II), 864–877. https://doi.org/10.4319/lo.1999.44.3_part_2.0864

Foo, S. A., & Byrne, M. (2016). Acclimatization and Adaptive Capacity of Marine Species in a Changing Ocean. In *Advances in Marine Biology* (1st ed., Vol. 74). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/bs.amb.2016.06.001

Fossi, M. C., Coppola, D., Baini, M., Giannetti, M., Guerranti, C., Marsili, L., Panti, C., de Sabata, E., & Clò, S. (2014). Large filter feeding marine organisms as indicators of microplastic in the pelagic environment: The case studies of the Mediterranean basking shark (Cetorhinus maximus)

and fin whale (Balaenoptera physalus). *Marine Environmental Research*, *100*(2014), 17–24. https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2014.02.002

Fournier, J., Levesque, E., Pouvreau, S., Le Pennec, M., & Le Moullac, G. (2012). Influence of plankton concentration on gametogenesis and spawning of the black lip pearl oyster *Pinctada margaritifera* in Ahe atoll lagoon (Tuamotu archipelago, French polynesia). *Marine Pollution Bulletin*, *65*(10–12), 463–470. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.03.027

Freilich, S., Zarecki, R., Eilam, O., Segal, E. S., Henry, C. S., Kupiec, M., Gophna, U., Sharan, R., & Ruppin, E. (2011). Competitive and cooperative metabolic interactions in bacterial communities. *Nature Communications*, *2*(1). https://doi.org/10.1038/ncomms1597

Fu, L., Li, J., Wang, G., Luan, Y., & Dai, W. (2021). Adsorption behavior of organic pollutants on microplastics. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *217*(March), 112207. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112207

Gaertner-Mazouni, N., Rodriguez, t & Gaertner, J-C. (2017).Caractérisation des macro-déchets immergés au sein du lagon des îles Gambier : bilan des connaissances et étude sur l'opportunité de leur collecte. Projet RESCCUE, Communauté du Pacifique-CPS (2015-2018), 35 pages + annexes.

Gaertner-Mazouni N & Rodriguez T (2017). Note de synthèse relative aux interactions Perliculture – Environnement. Rapport UPF réalisé dans le cadre du projet RESCCUE, Communauté du Pacifique CPS, 28 pages.

Galgani, F. (2006). Chemical contamination and sediment toxicity along the coast of Corsica. *Chemistry and Ecology*, *22*(4), 299–312.

Galgani, François, Bruzaud, S., Duflos, G., Fabre, P., Gastaldi, E., Ghiglione, J., Grimaud, R., George, M., Huvet, A., Lagarde, F., Paul-Pont, I., & Ter Halle, A. (2020). Pollution des océans par les plastiques et les microplastiques. *Techniques de l'ingénieur*, *33*(0).

Gall, S. C., & Thompson, R. C. (2015). The impact of debris on marine life. *Marine Pollution Bulletin*, *92*(1–2), 170–179. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.12.041

Gambarini, V., Pantos, O., Kingsbury, J. M., Weaver, L., Handley, K. M., & Lear, G. (2021). Phylogenetic Distribution of Plastic-Degrading Microorganisms. *MSystems*, *6*(1).

https://doi.org/10.1128/msystems.01112-20

Gandara e Silva, P. P., Nobre, C. R., Resaffe, P., Pereira, C. D. S., & Gusmão, F. (2016). Leachate from microplastics impairs larval development in brown mussels. *Water Research*, *106*, 364–370. https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.10.016

Gannier, A. (2005). The Large-Scale Distribution of Humpback Whales (*Megaptera novaeangliae*) Wintering in French Polynesia During 1997-2002. *Aquatic Mammals*, *30*(2), 227–236. https://doi.org/10.1578/am.30.2.2004.227

Gardon, T., El Rakwe, M., Paul-Pont, I., Le Luyer, J., Thomas, L., Prado, E., Boukerma, K., Cassone, A. L., Quillien, V., Soyez, C., Costes, L., Crusot, M., Dreanno, C., Le Moullac, G., & Huvet, A. (2021). Microplastics contamination in pearl-farming lagoons of French Polynesia. *Journal of Hazardous Materials*, *419*. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126396

Gardon, T., Huvet, A., Paul-Pont, I., Cassone, A. L., Sham Koua, M., Soyez, C., Jezequel, R., Receveur, J., & Le Moullac, G. (2020a). Toxic effects of leachates from plastic pearl-farming gear on embryo-larval development in the pearl oyster *Pinctada margaritifera*. *Water Research*, *179*, 115890. https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115890

Gardon, T., Le Luyer, J., Le Moullac, G., Soyez, C., Lagarde, F., Dehaut, A., Paul-Pont, I., & Huvet, A. (2024). Pearl Farming Micro-Nanoplastics Affect Oyster Physiology and Pearl Quality. *Environmental Science and Technology*, *58*(1), 207–218. https://doi.org/10.1021/acs.est.3c06684

Gardon, T., Morvan, L., Huvet, A., Quillien, V., Soyez, C., Le Moullac, G., & Le Luyer, J. (2020b). Microplastics induce dose-specific transcriptomic disruptions in energy metabolism and immunity of the pearl oyster *Pinctada margaritifera*. *Environmental Pollution*, *266*. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115180

Gardon, T., Reisser, C., Soyez, C., Quillien, V., & Le Moullac, G. (2018). Microplastics Affect Energy Balance and Gametogenesis in the Pearl Oyster *Pinctada margaritifera*. *Environmental Science and Technology*, *52*(9), 5277–5286. https://doi.org/10.1021/acs.est.8b00168

Garnier, Y., Jacob, H., Guerra, A. S., Bertucci, F., & Lecchini, D. (2019). Evaluation of microplastic ingestion by tropical fish from Moorea Island, French Polynesia. *Marine Pollution Bulletin*, *140*(January), 165–170. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.01.038

Garrido Gamarro, E., Ryder, J., Elvevoll, E. O., & Olsen, R. L. (2020). Microplastics in Fish and Shellfish–A Threat to Seafood Safety? *Journal of Aquatic Food Product Technology*, *29*(4), 417–425. https://doi.org/10.1080/10498850.2020.1739793

GESAMP. (2019). Guidelines for the monitoring and assessment of plastic litter in the ocean: GESAMP Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Environmental Protection. *United Nations Environment Programme*, *no 99*, 138. http://www.gesamp.org/publications/guidelines-for-the-monitoring-and-assessment-of-plastic-litter-in-the-ocean

Geyer, R. (2020). Production, use, and fate of synthetic polymers. In *Plastic Waste and Recycling*. Elsevier Inc. https://doi.org/10.1016/b978-0-12-817880-5.00002-5

Geyer, R., Jambeck, J. R., & Law, K. L. (2017). Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science Advances*, *3*(7), 25–29. https://doi.org/10.1126/sciadv.1700782

Gilbert, A., Yan, L., Remoissenet, G., Andréfouët, S., Payri, C., & Chancerelle, Y. (2005). Extraordinarily high giant clam density under protection in Tatakoto atoll (Eastern Tuamotu archipelago, French Polynesia). *Coral Reefs*, *24*(3), 495. https://doi.org/10.1007/s00338-005-0494-2

Gissi, F., Stauber, J. L., Binet, M. T., Trenfield, M. A., Van Dam, J. W., & Jolley, D. F. (2018). Assessing the chronic toxicity of nickel to a tropical marine gastropod and two crustaceans. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *159*(April), 284–292. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.05.010

Glasl, B., Webster, N. S., & Bourne, D. G. (2017). Microbial indicators as a diagnostic tool for assessing water quality and climate stress in coral reef ecosystems. *Marine Biology*, *164*(4), 1–18. https://doi.org/10.1007/s00227-017-3097-x

Godéré, I., Gaertner, J. C., Dassié, E. P., Belamy, T., Maihota, N., Baudrimont, M., & Gaertner-Mazouni, N. (2023). Metallic trace element contamination of the giant clam *Tridacna maxima* in French Polynesia. *Marine Pollution Bulletin*, *196*(September). https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2023.115639

Godfrey, L. (2019). Waste plastic, the challenge facing developing countries—Ban it, change it, collect it? *Recycling*, *4*(1), 2–7. https://doi.org/10.3390/recycling4010003

Gouin, T., Becker, R. A., Collot, A. G., Davis, J. W., Howard, B., Inawaka, K., Lampi, M., Ramon, B. S., Shi, J., & Hopp, P. W. (2019). Toward the Development and Application of an Environmental Risk Assessment Framework for Microplastic. *Environmental Toxicology and Chemistry*, *38*(10), 2087–2100. https://doi.org/10.1002/etc.4529

Goulais, M., Saulnier, D., Rouxel, J., & Galgani, F. (2024). Science of the Total Environment Bioindicator species of plastic toxicity in tropical environments. *Science of the Total Environment*, *954*(August), 176185. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.176185

Grangeré, K., Ménesguen, A., Lefebvre, S., Bacher, C., & Pouvreau, S. (2009). Modelling the influence of environmental factors on the physiological status of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* in an estuarine embayment; The Baie des Veys (France). *Journal of Sea Research*, *62*(2–3), 147–158. https://doi.org/10.1016/j.seares.2009.02.002

Green, D. S. (2016). Effects of microplastics on European flat oysters, *Ostrea edulis* and their associated benthic communities. *Environmental Pollution*, *216*, 95–103. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.05.043

Gueguen, Y., Denis, S., Adrien, S., Kevin, M., Pierre, G., Solène, B., Marine, N., Patrick, B., Herehia, H., Serge, P., & Gilles, L. M. (2017). Response of the pearl oyster *Pinctada margaritifera* to cadmium and chromium: Identification of molecular biomarkers. *Marine Pollution Bulletin*, *118*(1–2), 420–426. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.03.012

Guibert, I., Lecellier, G., Torda, G., Pochon, X., & Berteaux-Lecellier, V. (2020). Metabarcoding reveals distinct microbiotypes in the giant clam *Tridacna maxima*. *Microbiome*, *8*(1), 1–14. https://doi.org/10.1186/s40168-020-00835-8

Guo, X., & Wang, J. (2019a). The chemical behaviors of microplastics in marine environment: A review. *Marine Pollution Bulletin*, *142*(March), 1–14. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.03.019

Guo, X., & Wang, J. (2019b). The chemical behaviors of microplastics in marine environment: A review. *Marine Pollution Bulletin*, *142*(February), 1–14. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.03.019

Guzzetti, E., Sureda, A., Tejada, S., & Faggio, C. (2018). Microplastic in marine organism: Environmental and toxicological effects. *Environmental Toxicology and Pharmacology*,

64(November), 164–171. https://doi.org/10.1016/j.etap.2018.10.009

Hahladakis, J. N., Velis, C. A., Weber, R., Iacovidou, E., & Purnell, P. (2018). An overview of chemical additives present in plastics: Migration, release, fate and environmental impact during their use, disposal and recycling. *Journal of Hazardous Materials*, *344*, 179–199. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.10.014

Hall, N. M., Berry, K. L. E., Rintoul, L., & Hoogenboom, M. O. (2015). Microplastic ingestion by scleractinian corals. *Marine Biology*, *162*(3), 725–732. https://doi.org/10.1007/s00227-015-2619-7

Han, Z., Jiang, T., Xie, L., & Zhang, R. (2022). Microplastics impact shell and pearl biomineralization of the pearl oyster *Pinctada fucata*. *Environmental Pollution*, *293*(June 2021), 118522. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118522

Haram, L. E., Carlton, J. T., Centurioni, L., Choong, H., Cornwell, B., Crowley, M., Egger, M., Hafner, J., Hormann, V., Lebreton, L., Maximenko, N., McCuller, M., Murray, C., Par, J., Shcherbina, A., Wright, C., & Ruiz, G. M. (2023). Extent and reproduction of coastal species on plastic debris in the North Pacific Subtropical Gyre. *Nature Ecology and Evolution*, *7*(5), 687–697. https://doi.org/10.1038/s41559-023-01997-y

Harris, P. T., Maes, T., Raubenheimer, K., & Walsh, J. P. (2023). A marine plastic cloud - Global mass balance assessment of oceanic plastic pollution. *Continental Shelf Research*, *255*(January), 104947. https://doi.org/10.1016/j.csr.2023.104947

Harris, S. (2001). Coup d ’ oeil. *Oxford Art Journal*, *24*(1), 91–111.

Hédouin, L. S., Wolf, R. E., Phillips, J., & Gates, R. D. (2016). Improving the ecological relevance of toxicity tests on scleractinian corals: Influence of season, life stage, and seawater temperature. *Environmental Pollution*, *213*, 240–253. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.01.086

Heinrich Böll Stiftung, Break Free From Plastic, & Institute for Global Environmental Strategies. (2021). Plastic Atlas (Asia Edition). In *Angewandte Chemie International Edition, 6(11), 951–952.*

Henry, B., Laitala, K., & Klepp, I. G. (2019). Microfibres from apparel and home textiles: Prospects for including microplastics in environmental sustainability assessment. *Science of the Total*

Environment, *652*, 483–494. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.166

Hermabessiere, L., Dehaut, A., Paul-Pont, I., Lacroix, C., Jezequel, R., Soudant, P., & Duflos, G. (2017). Occurrence and effects of plastic additives on marine environments and organisms: A review. *Chemosphere*, *182*, 781–793. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.05.096

His, E., Robert, R., & Dinet, A. (1989). Combined effects of temperature and salinity on fed and starved larvae of the mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* and the Japanese oyster *Crassostrea gigas*. *Marine Biology*, *100*(4), 455–463. https://doi.org/10.1007/BF00394822

His, Edouard, Heyvang, I., Geffard, O., & De Montaudouin, X. (1999). A comparison between oyster (*Crassostrea gigas*) and sea urchin (*Paracentrotus lividus*) larval bioassays for toxicological studies. *Water Research*, *33*(7), 1706–1718. https://doi.org/10.1016/S0043-1354(98)00381-9

Hopewell, J., Dvorak, R., & Kosior, E. (2009). Plastics recycling: Challenges and opportunities. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *364*(1526), 2115–2126. https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0311

Horodytska, O., Valdés, F. J., & Fullana, A. (2018). Plastic flexible films waste management – A state of art review. *Waste Management*, *77*, 413–425. https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.04.023

Huang, S. C., & Newell, R. I. E. (2002). Seasonal variations in the rates of aquatic and aerial respiration and ammonium excretion of the ribbed mussel, *Geukensia demissa* (Dillwyn). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, *270*(2), 241–255. https://doi.org/10.1016/S0022-0981(02)00032-1

IEOM. (2020). La perliculture en polynésie française : état des lieux d'une filière fragilisée. *Institut d'Emission d'Outre-Mer*, *309*, 1–6.

Imhof, H. K., & Laforsch, C. (2016). Hazardous or not – Are adult and juvenile individuals of *Potamopyrgus antipodarum* affected by non-buoyant microplastic particles? *Environmental Pollution*, *218*, 383–391. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.07.017

Inrs. (2019). *Les additifs-Version 2-Base de données Plastiques, risque et analyse thermique*. 1–22.

INRS. (2011). *Toxicological sheet n°282: Cellulose fibers*. 1–9. www.inrs.fr/fichetox

Intes, A. (1984). L'huître nacrière en Polynésie Française : Mutation de l'exploitation. *Pêche*

Maritime, *1272*, 161–166.

Jabeen, K., Su, L., Li, J., Yang, D., Tong, C., Mu, J., & Shi, H. (2017). Microplastics and mesoplastics in fish from coastal and fresh waters of China. *Environmental Pollution*, *221*, 141–149. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.11.055

Jacquin, J., Cheng, J., Odobel, C., Pandin, C., Conan, P., Pujo-Pay, M., Barbe, V., Meistertzheim, A. L., & Ghiglione, J. F. (2019). Microbial ecotoxicology of marine plastic debris: A review on colonization and biodegradation by the "plastisphere." *Frontiers in Microbiology*, *10*(APR), 1–16. https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00865

Jambeck, J., Geyer, R., Wilcox, C., Siegler, T. R., Perryman, M., Andrady, A., Narayan, R., & Law, K. L. (2015a). the Ocean : the Ocean : *Marine Pollution*, *347*(6223), 768-. https://science.sciencemag.org/CONTENT/347/6223/768.abstract

Jambeck, J., Geyer, R., Wilcox, C., Siegler, T. R., Perryman, M., Andrady, A., Narayan, R., & Law, K. L. (2015b). the Ocean : the Ocean : *Marine Pollution*, *347*(6223), 768-. https://science.sciencemag.org/CONTENT/347/6223/768.abstract

Jaubert, J. M. (2008). Scientific considerations on a technique of ecological purification that made possible the cultivation of reef-building corals in Monaco. *Public Aquarium Husbandry*, *2*, 115–126.

Jiang, X., Chen, H., Liao, Y., Ye, Z., Li, M., & Klobučar, G. (2019). Ecotoxicity and genotoxicity of polystyrene microplastics on higher plant *Vicia faba*. *Environmental Pollution*, *250*, 831–838. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.04.055

Joachim, S., Morin, A., & Thybaud, É. (2009). Effet du cuivre sur la structure et le fonctionnement des écosystèmes aquatiques. *Actualite Chimique*, *334*, 55–57.

Jones, N. R., de Jersey, A. M., Lavers, J. L., Rodemann, T., & Rivers-Auty, J. (2024). Identifying laboratory sources of microplastic and nanoplastic contamination from the air, water, and consumables. *Journal of Hazardous Materials*, *465*(December 2023), 133276. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.133276

Kaandorp, M. L. A., Lobelle, D., Kehl, C., Dijkstra, H. A., & van Sebille, E. (2023). Global mass of buoyant marine plastics dominated by large long-lived debris. *Nature Geoscience*, *16*(8), 689–

694. https://doi.org/10.1038/s41561-023-01216-0

Kalmbach, S., Manz, W., Bendinger, B., & Szewzyk, U. (2000). In situ probing reveals Aquabacterium commune as a widespread and highly abundant bacterial species in drinking water biofilms. *Water Research*, *34*(2), 575–581. https://doi.org/10.1016/S0043-1354(99)00179-7

Karapanagioti, H. K., Endo, S., Ogata, Y., & Takada, H. (2011). Diffuse pollution by persistent organic pollutants as measured in plastic pellets sampled from various beaches in Greece. *Marine Pollution Bulletin*, *62*(2), 312–317. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2010.10.009

Ke, A. Y., Chen, J., Zhu, J., Wang, Y. H., Hu, Y., Fan, Z. L., Chen, M., Peng, P., Jiang, S. W., Xu, X. R., & Li, H. X. (2019). Impacts of leachates from single-use polyethylene plastic bags on the early development of clam *Meretrix meretrix* (Bivalvia: *Veneridae*). *Marine Pollution Bulletin*, *142*(March), 54–57. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.03.029

Kedzierski, M., Falcou-Préfol, M., Kerros, M. E., Henry, M., Pedrotti, M. L., & Bruzaud, S. (2019). A machine learning algorithm for high throughput identification of FTIR spectra: Application on microplastics collected in the Mediterranean Sea. *Chemosphere*, *234*, 242–251. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.05.113

Kesy, K., Oberbeckmann, S., Kreikemeyer, B., & Labrenz, M. (2019). Spatial Environmental Heterogeneity Determines Young Biofilm Assemblages on Microplastics in Baltic Sea Mesocosms. *Frontiers in Microbiology*, *10*(August), 1–18. https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01665

Khanjani, M. H., Sharifinia, M., & Mohammadi, A. R. (2023). The impact of microplastics on bivalve mollusks: A bibliometric and scientific review. *Marine Pollution Bulletin*, *194*(PA), 115271. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2023.115271

Killam, D., Thompson, D., Morgan, K., & Russell, M. (2023). Giant clams as open-source, scalable reef environmental biomonitors. *PLoS ONE*, *18*(1 January), 1–22. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0278752

Kinnberg, K., Korsgaard, B., Bjerregaard, P., & Jespersen, Å. (2000). Effects of nonylphenol and 17β-estradiol on vitellogenin synthesis and testis morphology in male platyfish *Xiphophorus maculatus*. *Journal of Experimental Biology*, *203*(2), 171–181.

https://doi.org/10.1242/jeb.203.2.171

Klein, K., Heß, S., Schulte-Oehlmann, U., & Oehlmann, J. (2021). Locomotor behavior of *Neocaridina palmata* : a study with leachates from UV-weathered microplastics . *PeerJ*, *9*, e12442. https://doi.org/10.7717/peerj.12442

Ko, G. W. K., Dineshram, R., Campanati, C., Chan, V. B. S., Havenhand, J., & Thiyagarajan, V. (2014). *Interactive E ff ects of Ocean Acidi fi cation, Elevated Temperature, and Reduced Salinity on Early-Life Stages of the Paci fi c Oyster*.

Krimsky, S. (2017). The unsteady state and inertia of chemical regulation under the US Toxic Substances Control Act. *PLoS Biology*, *15*(12), 1–10. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2002404

Kruskal, W. H., & Wallis, W. A. (1952). Use of Ranks in One-Criterion Variance Analysis. *Journal of the American Statistical Association*, *47*(260), 583–621. https://doi.org/10.1080/01621459.1952.10483441

Kwak, H. I., Bae, M. O., Lee, M. H., Lee, Y. S., Lee, B. J., Kang, K. S., Chae, C. H., Sung, H. J., Shin, J. S., Kim, J. H., Mar, W. C., Sheen, Y. Y., & Cho, M. H. (2001). Effects of nonylphenol, bisphenol A, and their mixture on the viviparous swordtail fish (*Xiphophorus helleri*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, *20*(4), 787–795. https://doi.org/10.1002/etc.5620200414

Ky, C. L., Lau, C., Koua, M. S., & Lo, C. (2015). Growth Performance Comparison of *Pinctada margaritifera* Juveniles Produced by Thermal Shock or Gonad Scarification Spawning Procedures. *Journal of Shellfish Research*, *34*(3), 811–817. https://doi.org/10.2983/035.034.0310

Laist, D. W. (1997). Impacts of Marine Debris: Entanglement of Marine Life in Marine Debris Including a Comprehensive List of Species with Entanglement and Ingestion Records. 99–139. https://doi.org/10.1007/978-1-4613-8486-1_10

Laporte, M., Reny-Nolin, E., Chouinard, V., Hernandez, C., Normandeau, E., Bougas, B., Côté, C., Behmel, S., & Bernatchez, L. (2021). Proper environmental DNA metabarcoding data transformation reveals temporal stability of fish communities in a dendritic river system. *Environmental DNA*, *3*(5), 1007–1022. https://doi.org/10.1002/edn3.224

Law, K. L. (2017). Plastics in the Marine Environment. *Annual Review of Marine Science*, *9*(1), 205–229. https://doi.org/10.1146/annurev-marine-010816-060409

Le Moullac, G., Soyez, C., Latchere, O., Vidal-Dupiol, J., Fremery, J., Saulnier, D., Lo Yat, A., Belliard, C., Mazouni-Gaertner, N., & Gueguen, Y. (2016). *Pinctada margaritifera* responses to temperature and pH: Acclimation capabilities and physiological limits. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, *182*, 261–269. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2016.04.011

Lear, G., Kingsbury, J. M., Franchini, S., Gambarini, V., Maday, S. D. M., Wallbank, J. A., Weaver, L., & Pantos, O. (2021). Plastics and the microbiome: impacts and solutions. *Environmental Microbiomes*, *16*(1), 1–19. https://doi.org/10.1186/s40793-020-00371-w

Lebreton, L., & Andrady, A. (2019). Future scenarios of global plastic waste generation and disposal. *Palgrave Communications*, *5*(1), 1–11. https://doi.org/10.1057/s41599-018-0212-7

Lee, H. J., Chattopadhyay, S., Gong, E. Y., Ahn, R. S., & Lee, K. (2003). Antiandrogenic effects of bisphenol A and nonylphenol on the function of androgen receptor. *Toxicological Sciences*, *75*(1), 40–46. https://doi.org/10.1093/toxsci/kfg150

Lee, J. W., Nam, J. H., Kim, Y. H., Lee, K. H., & Lee, D. H. (2008). Bacterial communities in the initial stage of marine biofilm formation on artificial surfaces. *Journal of Microbiology*, *46*(2), 174–182. https://doi.org/10.1007/s12275-008-0032-3

Lee, P. C., & Lee, W. (1996). In vivo estrogenic action of nonylphenol in immature female rats. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, *57*(3), 341–348. https://doi.org/10.1007/s001289900196

Legat, J. F. A., Puchnick-Legat, A., Sühnel, S., Pereira, A. L. M., Magalhães, A. R. M., & de Melo, C. M. R. (2021). Reproductive cycle of the mangrove oyster, *Crassostrea gasar* (Adanson, 1757), in tropical and temperate climates. *Aquaculture Research*, *52*(3), 991–1000. https://doi.org/10.1111/are.14954

Legendre, P., & Anderson, M. J. (1999). Distance-based redundancy analysis: Testing multispecies responses in multifactorial ecological experiments. *Ecological Monographs*, *69*(1), 1–24. https://doi.org/10.1890/0012-9615(1999)069[0001:DBRATM]2.0.CO;2

Lei, L., Wu, S., Lu, S., Liu, M., Song, Y., Fu, Z., Shi, H., Raley-Susman, K. M., & He, D. (2018).

Microplastic particles cause intestinal damage and other adverse effects in zebrafish *Danio rerio* and nematode *Caenorhabditis elegans*. *Science of the Total Environment*, *619–620*, 1–8. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.11.103

Leistenschneider, D., Wolinski, A., Cheng, J., ter Halle, A., Duflos, G., Huvet, A., Paul-Pont, I., Lartaud, F., Galgani, F., Lavergne, É., Meistertzheim, A.-L., & Ghiglione, J.-F. (2023). A critical review on the evaluation of toxicity and ecological risk assessment of plastics in the marine environment. *Science of The Total Environment*, *896*(March), 164955. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.164955

Lemonnier, C., Chalopin, M., Huvet, A., Le Roux, F., Labreuche, Y., Petton, B., Maignien, L., Paul-Pont, I., & Reveillaud, J. (2022). Time-series incubations in a coastal environment illuminates the importance of early colonizers and the complexity of bacterial biofilm dynamics on marine plastics. *Environmental Pollution*, *312*(May), 119994. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119994

Levene, H. (1960). Robust Tests for Equality of Variances. Contributions to Probability and Statistics. Stanford University Press, Chapter 25. pp. 278-292.

Lewis, P. N., Riddle, M. J., & Smith, S. D. A. (2005). Assisted passage or passive drift: A comparison of alternative transport mechanisms for non-indigenous coastal species into the Southern Ocean. *Antarctic Science*, *17*(2), 183–191. https://doi.org/10.1017/S0954102005002580

Li, J., Lusher, A. L., Rotchell, J. M., Deudero, S., Turra, A., Bråte, I. L. N., Sun, C., Shahadat Hossain, M., Li, Q., Kolandhasamy, P., & Shi, H. (2019). Using mussel as a global bioindicator of coastal microplastic pollution. *Environmental Pollution*, *244*, 522–533. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.10.032

Li, J., Yang, D., Li, L., Jabeen, K., & Shi, H. (2015). Microplastics in commercial bivalves from China. *Environmental Pollution*, *207*, 190–195. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.09.018

Li, L., Su, L., Cai, H., Rochman, C. M., Li, Q., Kolandhasamy, P., Peng, J., & Shi, H. (2019). The uptake of microfibers by freshwater Asian clams (*Corbicula fluminea*) varies based upon physicochemical properties. *Chemosphere*, *221*, 107–114. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.01.024

Li, Y., Liu, C., Yang, H., He, W., Li, B., Zhu, X., Liu, S., Jia, S., Li, R., & Tang, K. H. D. (2024).

Leaching of chemicals from microplastics: A review of chemical types, leaching mechanisms and influencing factors. *Science of the Total Environment*, *906*(October 2023), 167666. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.167666

Lian, J., Liu, W., Sun, Y., Men, S., Wu, J., Zeb, A., Yang, T., Ma, L. Q., & Zhou, Q. (2022). Nanotoxicological effects and transcriptome mechanisms of wheat (*Triticum aestivum L.*) under stress of polystyrene nanoplastics. *Journal of Hazardous Materials*, *423*(PB), 127241. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.127241

Lithner, D., Larsson, A., & Dave, G. (2011). Environmental and health hazard ranking and assessment of plastic polymers based on chemical composition. *Science of the Total Environment*, *409*(18), 3309–3324. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.04.038

Lithner, D., Nordensvan, I., & Dave, G. (2012). Comparative acute toxicity of leachates from plastic products made of polypropylene, polyethylene, PVC, acrylonitrile-butadiene-styrene, and epoxy to Daphnia magna. *Environmental Science and Pollution Research*, *19*(5), 1763–1772. https://doi.org/10.1007/s11356-011-0663-5

Lobelle, D., Kooi, M., Koelmans, A. A., Laufkötter, C., Jongedijk, C. E., Kehl, C., & van Sebille, E. (2021). Global Modeled Sinking Characteristics of Biofouled Microplastic. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, *126*(4), 1–15. https://doi.org/10.1029/2020JC017098

López, M. D., Toro, M. T., Riveros, G., Illanes, M., Noriega, F., Schoebitz, M., García-Viguera, C., & Moreno, D. A. (2022). Brassica sprouts exposed to microplastics: Effects on phytochemical constituents. *Science of the Total Environment*, *823*. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153796

Lopez, P., Saulnier, D., Swarup-Gaucher, S., David, R., Lau, C., Taputuarai, R., Belliard, C., Basset, C., Labrune, V., Marie, A., Bernardet, J. F., & Duchaud, E. (2022). First Isolation of Virulent Tenacibaculum maritimum Isolates from Diseased Orbicular Batfish (*Platax orbicularis*) Farmed in Tahiti Island. *Pathogens*, *11*(2). https://doi.org/10.3390/pathogens11020131

Lott, C., Eich, A., Unger, B., Makarow, D., Battagliarin, G., Schlegel, K., Lasut, M. T., & Weber, M. (2020). Field and mesocosm methods to test biodegradable plastic film under marine conditions. *PLoS ONE*, *15*(7 July), 1–26. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0236579

Luo, H., Liu, C., He, D., Sun, J., Li, J., & Pan, X. (2022). Effects of aging on environmental behavior

of plastic additives: Migration, leaching, and ecotoxicity. *Science of the Total Environment*, *849*(July), 157951. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.157951

Luo, H., Xiang, Y., He, D., Li, Y., Zhao, Y., Wang, S., & Pan, X. (2019). Leaching behavior of fluorescent additives from microplastics and the toxicity of leachate to *Chlorella vulgaris*. *Science of the Total Environment*, *678*, 1–9. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.401

Lyons, M. M., Ward, J. E., Gaff, H., Hicks, R. E., Drake, J. M., & Dobbs, F. C. (2010). Theory of island biogeography on a microscopic scale: Organic aggregates as islands for aquatic pathogens. *Aquatic Microbial Ecology*, *60*(1), 1–13. https://doi.org/10.3354/ame01417

Coeroli, M., De Gaillande, D., & Landret, J. P. (1984). Recent innovations in cultivation of molluscs in French Polynesia. Aquaculture, 39(1-4), 45-67.

Mafambissa, M., Rodrigues, M., Taimo, T., Andrade, C., Lindegart, M., & Macia, A. (2023). Gametogenic Cycle of the Oysters *Pinctada capensis* (Sowerby III, 1890) and *Saccostrea cucullata* (Born, 1778) (Class Bivalvia) in Inhaca Island, Southern Mozambique: A Subsidy for Bivalve Culture in the Region. *Diversity*, *15*(3). https://doi.org/10.3390/d15030361

Maguire, R., Johnson, H., Taboada, M. B., Barner, L., Caldwell, G. A., Dey, A., Dhumal, C. V., Sengupta, P., Kumar, A., Pramanik, N. K., & Alam, T. (2019). A review of Single-use Plastic Waste Policy in 2018: What will 2019 hold in store? *Journal of Food Science and Technology*, *58*(9), 1–4. https://doi.org/10.1007/s13197-020-04885-6%0Ahttps://eprints.qut.edu.au/127711/2/127711.pdf

Mahmood, Y., Ghaffar, A., & Hussain, R. (2021). New Insights into Hemato-Biochemical and Histopathological Effects of Acetochlor in Bighead Carp (*Aristichthys nobilis*). *Pakistan Veterinary Journal*, *8318*(2), 85–92. https://doi.org/10.1097/QCO.0b013e3283638104

Mahmood, Y., Hussain, R., Ghaffar, A., Ali, F., Nawaz, S., Mehmood, K., & Khan, A. (2022). Acetochlor Affects Bighead Carp (Aristichthys Nobilis) by Producing Oxidative Stress, Lowering Tissue Proteins, and Inducing Genotoxicity. *BioMed Research International*, *2022*. https://doi.org/10.1155/2022/9140060

Mai, H., Cachot, J., Brune, J., Geffard, O., Belles, A., Budzinski, H., & Morin, B. (2012). Embryotoxic and genotoxic effects of heavy metals and pesticides on early life stages of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *Marine Pollution Bulletin*, *64*(12), 2663–2670.

https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.10.009

Mai, H., Morin, B., Pardon, P., Gonzalez, P., Budzinski, H., & Cachot, J. Ô. (2013). Environmental concentrations of irgarol, diuron and S-metolachlor induce deleterious effects on gametes and embryos of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Marine Environmental Research, 89*, 1–8. https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2013.04.003

Manolaki, S. M., Chatzivasileiou, D., Lampa, M., Dimitriou, P. D., Philippidis, A., Karakassis, I., & Papageorgiou, N. (2023). Microplastic Contamination in Cultured Mussels and Pearl Oysters in Greece. *Microplastics*, *2*(2), 168–181. https://doi.org/10.3390/microplastics2020013

Mao, Y., Zhou, Y., Yang, H., & Wang, R. (2006). Seasonal variation in metabolism of cultured Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, in Sanggou Bay, China. *Aquaculture*, *253*(1–4), 322–333. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.05.033

Marangoni, L. F. B., Beraud, E., & Ferrier-Pagès, C. (2021). Polystyrene nanoplastics impair the photosynthetic capacities of Symbiodiniaceae and promote coral bleaching. *Science of The Total Environment*, 152136. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.152136

Markich, S. J. (2021). Comparative embryo/larval sensitivity of Australian marine bivalves to ten metals: A disjunct between physiology and phylogeny. *Science of the Total Environment*, *789*, 147988. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147988

Martin.M. (2011). Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet. J. 17, 3.*, *7*(10), 2803–2809.

Martínez-Campos, S., González-Pleiter, M., Fernández-Piñas, F., Rosal, R., & Leganés, F. (2021). Early and differential bacterial colonization on microplastics deployed into the effluents of wastewater treatment plants. *Science of the Total Environment*, *757*, 143832. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143832

Mateos-Cárdenas, A., O'Halloran, J., van Pelt, F. N. A. M., & Jansen, M. A. K. (2021). Beyond plastic microbeads – Short-term feeding of cellulose and polyester microfibers to the freshwater amphipod *Gammarus duebeni*. *Science of the Total Environment*, *753*, 141859. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141859

Meijer, L. J. J., van Emmerik, T., van der Ent, R., Schmidt, C., & Lebreton, L. (2021). More than 1000

rivers account for 80% of global riverine plastic emissions into the ocean. *Science Advances*, *7*(18), 1–14. https://doi.org/10.1126/sciadv.aaz5803

Meng, F., Ni, Z., Tan, L., Cai, P., & Wang, J. (2024). Oxidative stress and energy metabolic response of *Isochrysis galbana* induced by different types of pristine and aging microplastics and their leachates. *Chemosphere*, *348*(238), 140755. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.140755

Mladinich, K., Holohan, B. A., Shumway, S. E., Brown, K., & Ward, J. E. (2022). Determining the Properties that Govern Selective Ingestion and Egestion of Microplastics by the Blue Mussel (*Mytilus edulis*) and Eastern Oyster (*Crassostrea virginica*). *Environmental Science and Technology*, *56*(22), 15770–15779. https://doi.org/10.1021/acs.est.2c06402

Molnar, J. L., Gamboa, R. L., Revenga, C., & Spalding, M. D. (2008). Assessing the global threat of invasive species to marine biodiversity. *Frontiers in Ecology and the Environment*, *6*(9), 485–492. https://doi.org/10.1890/070064

Monaco, C. J., Sangare, N., Le Moullac, G., Basset, C., Belliard, C., Mizuno, K., Smith, D. L., & Lo-Yat, A. (2021). Dynamic Energy Budget model suggests feeding constraints and physiological stress in black-lip pearl oysters, 5 years post mass-mortality event. *Marine Pollution Bulletin*, *167*(January). https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112329

Montgomery, D. C., Peck, E. A., & Vining, G. G. (2021). Introduction to linear regression analysis. John Wiley & Sons.

Moore, C. J. (2008). Synthetic polymers in the marine environment: A rapidly increasing, long-term threat. *Environmental Research*, *108*(2), 131–139. https://doi.org/10.1016/j.envres.2008.07.025

Morgana, S., Ghigliotti, L., Estévez-Calvar, N., Stifanese, R., Wieckzorek, A., Doyle, T., Christiansen, J. S., Faimali, M., & Garaventa, F. (2018). Microplastics in the Arctic: A case study with sub-surface water and fish samples off Northeast Greenland. *Environmental Pollution*, *242*, 1078–1086. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.08.001

Morroni, L., Pinsino, A., Pellegrini, D., & Regoli, F. (2018). Reversibility of trace metals effects on sea urchin embryonic development. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *148*(November 2017), 923–929. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.11.013

Morroni, Lorenzo, Sartori, D., Costantini, M., Genovesi, L., Magliocco, T., Ruocco, N., & Buttino, I.

(2019). First molecular evidence of the toxicogenetic effects of copper on sea urchin *Paracentrotus lividus* embryo development. *Water Research*, *160*, 415–423. https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.05.062

Mu, J., Wang, J., Jin, F., Wang, X., & Hong, H. (2014). Comparative embryotoxicity of phenanthrene and alkyl-phenanthrene to marine medaka (*Oryzias melastigma*). *Marine Pollution Bulletin*, *85*(2), 505–515. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.01.040

Multisanti, C. R., Merola, C., Perugini, M., Aliko, V., & Faggio, C. (2022). Sentinel species selection for monitoring microplastic pollution: A review on one health approach. *Ecological Indicators*, *145*(October), 109587. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2022.109587

Muthukrishnan, T., Al Khaburi, M., & Abed, R. M. M. (2019). Fouling Microbial Communities on Plastics Compared with Wood and Steel: Are They Substrate- or Location-Specific? *Microbial Ecology*, *78*(2), 361–374. https://doi.org/10.1007/s00248-018-1303-0

Nadella, S. R., Fitzpatrick, J. L., Franklin, N., Bucking, C., Smith, S., & Wood, C. M. (2009). Toxicity of dissolved Cu, Zn, Ni and Cd to developing embryos of the blue mussel (*Mytilus trossolus*) and the protective effect of dissolved organic carbon. *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology*, *149*(3), 340–348. https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2008.09.001

Net, S., Delmont, A., Sempéré, R., Paluselli, A., & Ouddane, B. (2015). Reliable quantification of phthalates in environmental matrices (air, water, sludge, sediment and soil): A review. *Science of the Total Environment*, *515–516*, 162–180. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.02.013

Neves, D., Sobral, P., Ferreira, J. L., & Pereira, T. (2015). Ingestion of microplastics by commercial fish off the Portuguese coast. *Marine Pollution Bulletin*, *101*(1), 119–126. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.11.008

Noorimotlagh, Z., Mirzaee, S. A., Martinez, S. S., Rachoń, D., Hoseinzadeh, M., & Jaafarzadeh, N. (2020). Environmental exposure to nonylphenol and cancer progression Risk–A systematic review. *Environmental Research*, *184*(February). https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109263

Nowlan, J. P., Lumsden, J. S., & Russell, S. (2020). Advancements in characterizing *Tenacibaculum* infections in Canada. *Pathogens*, *9*(12), 1–35. https://doi.org/10.3390/pathogens9121029

Nowland, S. J., O'Connor, W. A., Elizur, A., & Southgate, P. C. (2021). Evaluating spawning

induction methods for the tropical black-lip rock oyster, *Saccostrea echinata*. *Aquaculture Reports*, *20*, 100676. https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100676

Obbard, R. W., Sadri, S., Wong, Y. Q., Khitun, A. A., Baker, I., & Richard, C. (2014). Who Where Why - wordpress blog - Community mapping examples. *Earth's Future*, *2*, 315–320. https://doi.org/10.1002/2014EF000240.Abstract

Odum, E. P. (1984). The Mesocosm. *BioScience*, *34*(9), 558–562. https://doi.org/10.2307/1309598

Olesen, S. W., Duvallet, C., & Alm, E. J. (2017). DbOTU3: A new implementation of distribution-based OTU calling. *PLoS ONE*, *12*(5), 1–13. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176335

Ortiz-Zarragoitia, M., Trant, J. M., & Cajaraville, M. P. (2006). Effects of dibutylphthalate and ethynylestradiol on liver peroxisomes, reproduction, and development of zebrafish (*Danio rerio*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, *25*(9), 2394–2404. https://doi.org/10.1897/05-456R.1

Oyake-Ombis, L., van Vliet, B. J. M., & Mol, A. P. J. (2015). Managing plastic waste in East Africa: Niche innovations in plastic production and solid waste. *Habitat International*, *48*, 188–197. https://doi.org/10.1016/j.habitatint.2015.03.019

Pagenkopp Lohan, K. M., Hill-Spanik, K. M., Torchin, M. E., Strong, E. E., Fleischer, R. C., & Ruiz, G. M. (2015). Molecular phylogenetics reveals first record and invasion of *Saccostrea species* in the Caribbean. *Marine Biology*, *162*(5), 957–968. https://doi.org/10.1007/s00227-015-2637-5

Pagès, J., & Andréfouët, S. (2001). A reconnaissance approach for hydrology of atoll lagoons. *Coral Reefs*, *20*(4), 409–414. https://doi.org/10.1007/s00338-001-0192-7

Pales Espinosa, E., & Allam, B. (2013). Food quality and season affect gene expression of the mucosal lectin MeML and particle sorting in the blue mussel *Mytilus edulis*. *Marine Biology*, *160*(6), 1441–1450. https://doi.org/10.1007/s00227-013-2196-6

Paluselli, A., Fauvelle, V., Galgani, F., & Sempéré, R. (2019). Phthalate Release from Plastic Fragments and Degradation in Seawater. *Environmental Science and Technology*, *53*(1), 166–175. https://doi.org/10.1021/acs.est.8b05083

Paluselli, A., & Kim, S. K. (2020). Horizontal and vertical distribution of phthalates acid ester (PAEs) in seawater and sediment of East China Sea and Korean South Sea: Traces of plastic debris?

Marine Pollution Bulletin, *151*(December 2019), 110831. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.110831

Pantos, O., Cooney, R. P., Le Tissier, M. D. A., Barer, M. R., O'Donnell, A. G., & Bythell, J. C. (2003). The bacterial ecology of a plague-like disease affecting the Caribbean coral *Montastrea annularis*. *Environmental Microbiology*, *5*(5), 370–382. https://doi.org/10.1046/j.1462-2920.2003.00427.x

Parada, A. E., Needham, D. M., & Fuhrman, J. A. (2016). Every base matters: Assessing small subunit rRNA primers for marine microbiomes with mock communities, time series and global field samples. *Environmental Microbiology*, *18*(5), 1403–1414. https://doi.org/10.1111/1462-2920.13023

Parker, L. M., Ross, P. M., & O'Connor, W. A. (2009). The effect of ocean acidification and temperature on the fertilization and embryonic development of the Sydney rock oyster *Saccostrea glomerata* (Gould 1850). *Global Change Biology*, *15*(9), 2123–2136. https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2009.01895.x

Parkes, A. (1865). On the properties of parkesine and its application to the arts and and manufactures. *Journal of the Franklin Institute*, *57*(3), 188–189. https://doi.org/10.1016/0016-0032(54)90402-0

Pasqualini, V., Garrido, M., Cecchi, P., Connès, C., Couté, A., El Rakwe, M., Henry, M., Hervio-Heath, D., Quilichini, Y., Simonnet, J., Rinnert, E., Vitré, T., & Galgani, F. (2023). Harmful algae and pathogens on plastics in three mediterranean coastal lagoons. *Heliyon*, *9*(3). https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e13654

Patterson, J., Jeyasanta, K. I., Sathish, N., Booth, A. M., & Edward, J. K. P. (2019). Profiling microplastics in the Indian edible oyster, *Magallana bilineata* collected from the Tuticorin coast, Gulf of Mannar, Southeastern India. *Science of the Total Environment*, *691*, 727–735. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.063

Peng, L., Fu, D., Qi, H., Lan, C. Q., Yu, H., & Ge, C. (2020). Micro- and nano-plastics in marine environment: Source, distribution and threats — A review. *Science of the Total Environment*, *698*, 134254. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134254

Penn, J. L., & Deutsch, C. (2022). Avoiding ocean mass extinction from climate warming. *Science*, *526*(April), 307–307. https://doi.org/10.1007/978-3-319-95885-9_300028

Pétinay, S., Chataigner, C., & Basuyaux, O. (2009). Standardisation du développement larvaire de l'oursin, *Paracentrotus lividus*, pour l'évaluation de la qualité d'une eau de mer. *Comptes Rendus - Biologies*, *332*(12), 1104–1114. https://doi.org/10.1016/j.crvi.2009.08.002

Phuong, N. N., Poirier, L., Pham, Q. T., Lagarde, F., & Zalouk-Vergnoux, A. (2018). Factors influencing the microplastic contamination of bivalves from the French Atlantic coast: Location, season and/or mode of life? *Marine Pollution Bulletin*, *129*(2), 664–674. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.10.054

Pinto, M., Langer, T. M., Hüffer, T., Hofmann, T., & Herndl, G. J. (2019). The composition of bacterial communities associated with plastic biofilms differs between different polymers and stages of biofilm succession. *PLoS ONE*, *14*(6), 1–20. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217165

PlasticEurope. (2022). *Plastics Europe 2022*.

Plastics Europe. (2023). Plastics - the fast facts 2023. *2023*, 2023.

Poncet, S., Dahlberg, L., Poncet, S., Dahlberg, L., & Regnault, V. (2011). *The legacy of Henri Victor Regnault in the arts and sciences To cite this version : HAL Id : hal-00678894 The Legacy of Henri Victor Regnault in the Arts and Sciences*. *4*, 377–440.

Porter, A., Lyons, B. P., Galloway, T. S., & Lewis, C. (2018). Role of Marine Snows in Microplastic Fate and Bioavailability. *Environmental Science and Technology*, *52*(12), 7111–7119. https://doi.org/10.1021/acs.est.8b01000

Pouvreau, S., & Prasil, V. (2001). Growth of the black-lip pearl oyster, *Pinctada margaritifera*, at nine culture sites of French Polynesia: Synthesis of several sampling designs conducted between 1994 and 1999. *Aquatic Living Resources*, *14*(3), 155–163. https://doi.org/10.1016/S0990-7440(01)01120-2

Pouvreau, Stéphane, Jonquières, G., & Buestel, D. (1999). Filtration by the pearl oyster, *Pinctada margaritifera*, under conditions of low seston load and small particle size in a tropical lagoon habitat. *Aquaculture*, *176*(3–4), 295–314. https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00102-7

Prokić, M. D., Gavrilović, B. R., Radovanović, T. B., Gavrić, J. P., Petrović, T. G., Despotović, S. G., & Faggio, C. (2021). Studying microplastics: Lessons from evaluated literature on animal model

organisms and experimental approaches. *Journal of Hazardous Materials*, *414*(February). https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125476

Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., Peplies, J., & Glöckner, F. O. (2013). The SILVA ribosomal RNA gene database project: Improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Research*, *41*(D1), 590–596. https://doi.org/10.1093/nar/gks1219

Ragusa, A., Notarstefano, V., Svelato, A., Belloni, A., Gioacchini, G., Blondeel, C., Zucchelli, E., De Luca, C., D'avino, S., Gulotta, A., Carnevali, O., & Giorgini, E. (2022). Raman Microspectroscopy Detection and Characterisation of Microplastics in Human Breastmilk. *Polymers*, *14*(13), 1–14. https://doi.org/10.3390/polym14132700

Rajapakse, N., Silva, E., & Kortenkamp, A. (2002). Combining xenoestrogens at levels below individual no-observed-effect concentrations dramatically enhances steroid hormone action. *Environmental Health Perspectives*, *110*(9), 917–921. https://doi.org/10.1289/ehp.02110917

Rakaj, A., Morroni, L., Grosso, L., Fianchini, A., Pensa, D., Pellegrini, D., & Regoli, F. (2021). Towards sea cucumbers as a new model in embryo-larval bioassays: *Holothuria tubulosa* as test species for the assessment of marine pollution. *Science of the Total Environment*, *787*, 147593. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147593

Ramadhaniaty, M., Setyobudiandi, I., & Madduppa, H. H. (2018). Morphogenetic and population structure of two species marine bivalve (Ostreidae: *Saccostrea cucullata* and *Crassostrea iredalei*) in aceh, Indonesia. *Biodiversitas*, *19*(3), 978–988. https://doi.org/10.13057/biodiv/d190329

Rangel-Buitrago, N., Neal, W. J., & Galgani, F. (2023). Plastics in the Anthropocene: A multifaceted approach to marine pollution management. *Marine Pollution Bulletin*, *194*(PA), 115359. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2023.115359

Rech, S., Borrell Pichs, Y. J., & García-Vazquez, E. (2018). Anthropogenic marine litter composition in coastal areas may be a predictor of potentially invasive rafting fauna. *PLoS ONE*, *13*(1), 1–22. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191859

Rehse, S., Kloas, W., & Zarfl, C. (2016). Short-term exposure with high concentrations of pristine microplastic particles leads to immobilisation of *Daphnia magna*. *Chemosphere*, *153*, 91–99. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.02.133

Reisser, C. M. O., Le Gendre, R., Chupeau, C., Lo-Yat, A., Planes, S., & Andréfouët, S. (2020). Population connectivity and genetic assessment of exploited and natural populations of pearl oysters within a French Polynesian Atoll Lagoon (Genes, (2020) 11, 426, 10.3390/genes11040426). *Genes*, *11*(11), 1–2. https://doi.org/10.3390/genes11111358

Rezaei Somee, M., Dastgheib, S. M. M., Shavandi, M., Ghanbari Maman, L., Kavousi, K., Amoozegar, M. A., & Mehrshad, M. (2021). Distinct microbial community along the chronic oil pollution continuum of the Persian Gulf converge with oil spill accidents. *Scientific Reports*, *11*(1), 1–15. https://doi.org/10.1038/s41598-021-90735-0

Ribeiro, F., Garcia, A. R., Pereira, B. P., Fonseca, M., Mestre, N. C., Fonseca, T. G., Ilharco, L. M., & Bebianno, M. J. (2017). Microplastics effects in *Scrobicularia plana*. *Marine Pollution Bulletin*, *122*(1–2), 379–391. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.06.078

Kusuda, R., Kawai, K., Salati, F., Kawamura, Y., & Yamashita, Y. (1992). Characteristics of *Flavobacterium sp*. causing "Suminori" disease in cultivated *Porphyra*. Aquaculture Science, 40(4), 457-461. https://doi.org/10.11233/aquaculturesci1953.40.457

Rivas, A. J., Lemos, M. L., & Osorio, C. R. (2013). *Photobacterium damselae subsp.* a bacterium pathogenic for marine animals and humans. *Frontiers in Microbiology*, *4*(SEP), 1–6. https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00283

Rivers, N., Shenstone-Harris, S., & Young, N. (2017). Using nudges to reduce waste? The case of Toronto's plastic bag levy. *Journal of Environmental Management*, *188*, 153–162. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.12.009

Rochman, C. M., Hoh, E., Kurobe, T., & Teh, S. J. (2013). Ingested plastic transfers hazardous chemicals to fish and induces hepatic stress. *Scientific Reports*, *3*, 1–7. https://doi.org/10.1038/srep03263

Rodier, M., Longo, S., Henry, K., Ung, A., Lo-Yat, A., Taiana Darius, H., Viallon, J., Beker, B., Delesalle, B., & Chinain, M. (2019). Diversity and toxic potential of algal bloom-forming species from Takaroa lagoon (Tuamotu, French Polynesia): A field and mesocosm study. *Aquatic Microbial Ecology*, *83*(1), 15–34. https://doi.org/10.3354/ame01900

Rosen, G., Rivera-Duarte, I., Bart Chadwick, D., Ryan, A., Santore, R. C., & Paquin, P. R. (2008). Critical tissue copper residues for marine bivalve (*Mytilus galloprovincialis*) and echinoderm

(*Strongylocentrotus purpuratus*) embryonic development: Conceptual, regulatory and environmental implications. *Marine Environmental Research*, *66*(3), 327–336. https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2008.05.006

Rossbach, S., Cardenas, A., Perna, G., Duarte, C. M., & Voolstra, C. R. (2019). Tissue-Specific Microbiomes of the Red Sea Giant Clam Tridacna maxima Highlight Differential Abundance of *Endozoicomonadaceae*. *Frontiers in Microbiology*, *10*(November). https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02661

Rotjan, R. D., Sharp, K. H., Gauthier, A. E., Yelton, R., Baron Lopez, E. M., Carilli, J., Kagan, J. C., & Urban-Rich, J. (2019). Patterns, dynamics and consequences of microplastic ingestion by the temperate coral, *Astrangia poculata*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *286*(1905), 1–9. https://doi.org/10.1098/rspb.2019.0726

Rudén, C., & Hansson, S. O. (2010). Registration, Evaluation, and Authorization of Chemicals (REACH) is but the first step-how far will it take us? Six further steps to improve the european chemicals legislation. *Environmental Health Perspectives*, *118*(1), 6–10. https://doi.org/10.1289/ehp.0901157

Sangare, N., Lo-Yat, A., Moullac, G. Le, Pecquerie, L., Thomas, Y., Lefebvre, S., Gendre, R. Le, Beliaeff, B., & Andréfouët, S. (2020). Impact of environmental variability on *Pinctada margaritifera* life-history traits: A full life cycle deb modeling approach. *Ecological Modelling*, *423*(February). https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2020.109006

Sarkhel, R., Sengupta, S., Das, P., & Bhowal, A. (2020). Comparative biodegradation study of polymer from plastic bottle waste using novel isolated bacteria and fungi from marine source. *Journal of Polymer Research*, *27*(1). https://doi.org/10.1007/s10965-019-1973-4

Saulnier, D., de Decker, S., Haffner, P., Cobret, L., Robert, M., & Garcia, C. (2010). A large-scale epidemiological study to identify bacteria pathogenic to Pacific Oyster *Crassostrea gigas* and correlation between virulence and metalloprotease-like activity. *Microbial Ecology*, *59*(4), 787–798. https://doi.org/10.1007/s00248-009-9620-y

Scott, D. N. (2009). Testing toxicity: Proof and precaution in Canada's chemicals management plan. *Review of European Community and International Environmental Law*, *18*(1), 59–76. https://doi.org/10.1111/j.1467-9388.2009.00621.x

Sehnal, L., Brammer-Robbins, E., Wormington, A. M., Blaha, L., Bisesi, J., Larkin, I., Martyniuk, C. J., Simonin, M., & Adamovsky, O. (2021). Microbiome Composition and Function in Aquatic Vertebrates: Small Organisms Making Big Impacts on Aquatic Animal Health. *Frontiers in Microbiology*, *12*(March). https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.567408

Shang, Y., Wang, X., Chang, X., Sokolova, I. M., Wei, S., Liu, W., Fang, J. K. H., Hu, M., Huang, W., & Wang, Y. (2021). The Effect of Microplastics on the Bioenergetics of the *Mussel Mytilus coruscus* Assessed by Cellular Energy Allocation Approach. *Frontiers in Marine Science*, *8*(September), 1–8. https://doi.org/10.3389/fmars.2021.754789

Shapiro, S. S., & Wilk, M. B. (1965). An Analysis of Variance Test for Normality (Complete Samples). *Biometrika*, *52*(3/4), 591. https://doi.org/10.2307/2333709

Sharifinia, M., Bahmanbeigloo, Z. A., Keshavarzifard, M., Khanjani, M. H., & Lyons, B. P. (2020). Microplastic pollution as a grand challenge in marine research: A closer look at their adverse impacts on the immune and reproductive systems. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *204*(July), 111109. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111109

Shruti, V. C., & Kutralam-Muniasamy, G. (2023). Blanks and bias in microplastic research: Implications for future quality assurance. *Trends in Environmental Analytical Chemistry*, *38*(March), e00203. https://doi.org/10.1016/j.teac.2023.e00203

Siebeck, U. E., Marshall, N. J., Klüter, A., & Hoegh-Guldberg, O. (2006). Monitoring coral bleaching using a colour reference card. *Coral Reefs*, *25*(3), 453–460. https://doi.org/10.1007/s00338-006-0123-8

Silva, E., Rajapakse, N., & Kortenkamp, A. (2002). Something from "nothing" - Eight weak estrogenic chemicals combined at concentrations below NOECs produce significant mixture effects. *Environmental Science and Technology*, *36*(8), 1751–1756. https://doi.org/10.1021/es0101227

Smith, E., & Dent, G. (2019). Modern Raman spectroscopy: a practical approach. John Wiley & Sons.

Sol Dourdin, T., Rivière, G., Cormier, A., Di Poi, C., Guyomard, K., Rabiller, M., Akcha, F., Bah Sadialiou, T., Le Monier, P., & Sussarellu, R. (2023). Molecular and phenotypic effects of early exposure to an environmentally relevant pesticide mixture in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Environmental Pollution*, *326*(March). https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.121472

Staple, C. A., Adams, W. J., Parkerton, T. F., & Gorsuch, J. W. (1997). Aquatic toxicity of eighteen phthalate esters. *Environmental Toxicology and Chemistry*, *16*(5), 875–891. https://doi.org/10.1002/etc.5620160507

Stara, A., Kubec, J., Zuskova, E., Buric, M., Faggio, C., Kouba, A., & Velisek, J. (2019). Effects of S-metolachlor and its degradation product metolachlor OA on marbled crayfish (*Procambarus virginalis*). *Chemosphere*, *224*, 616–625. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.02.187

Su, W., Zha, S., Wang, Y., Shi, W., Xiao, G., Chai, X., Wu, H., & Liu, G. (2017). Benzo[a]pyrene exposure under future ocean acidification scenarios weakens the immune responses of blood clam, *Tegillarca granosa*. *Fish and Shellfish Immunology*, *63*, 465–470. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.02.046

Sun, X., Chen, B., Xia, B., Li, Q., Zhu, L., Zhao, X., Gao, Y., & Qu, K. (2020). Impact of mariculture-derived microplastics on bacterial biofilm formation and their potential threat to mariculture: A case in situ study on the Sungo Bay, China. *Environmental Pollution*, *262*, 114336. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114336

Sureda, A., Capó, X., Busquets-Cortés, C., & Tejada, S. (2018). Acute exposure to sunscreen containing titanium induces an adaptive response and oxidative stress in *Mytillus galloprovincialis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *149*(November 2017), 58–63. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.11.014

Sussarellu, R., Suquet, M., Thomas, Y., Lambert, C., Fabioux, C., Pernet, M. E. J., Goïc, N. Le, Quillien, V., Mingant, C., Epelboin, Y., Corporeau, C., Guyomarch, J., Robbens, J., Paul-Pont, I., Soudant, P., & Huvet, A. (2016). Oyster reproduction is affected by exposure to polystyrene microplastics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *113*(9), 2430–2435. https://doi.org/10.1073/pnas.1519019113

Tabata, A., Kashiwada, S., Ohnishi, Y., Ishikawa, H., Miyamoto, N., Itoh, M., & Magara, Y. (2001). Estrogenic influences of estradiol-17b, p-nonylphenol and bis-phenol-A on Japanese Medaka (*Oryzias latipes*) at detected environmental concentrations. Water Science and Technology, 43(2), 109-116.

Teng, J., Wang, Q., Ran, W., Wu, D., Liu, Y., Sun, S., Liu, H., Cao, R., & Zhao, J. (2019). Microplastic in cultured oysters from different coastal areas of China. *Science of the Total Environment*, *653*, 1282–1292. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.11.057

Tetu, S. G., Sarker, I., & Moore, L. R. (2020). How will marine plastic pollution affect bacterial primary producers? *Communications Biology*, *3*(1), 20–23. https://doi.org/10.1038/s42003-020-0789-4

Tetu, S. G., Sarker, I., Schrameyer, V., Pickford, R., Elbourne, L. D. H., Moore, L. R., & Paulsen, I. T. (2019). Plastic leachates impair growth and oxygen production in *Prochlorococcus*, the ocean's most abundant photosynthetic bacteria. *Communications Biology*, *2*(1), 1–9. https://doi.org/10.1038/s42003-019-0410-x

Teuten, E. L., Saquing, J. M., Knappe, D. R. U., Barlaz, M. A., Jonsson, S., Björn, A., Rowland, S. J., Thompson, R. C., Galloway, T. S., Yamashita, R., Ochi, D., Watanuki, Y., Moore, C., Viet, P. H., Tana, T. S., Prudente, M., Boonyatumanond, R., Zakaria, M. P., Akkhavong, K., … Takada, H. (2009). Transport and release of chemicals from plastics to the environment and to wildlife. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *364*(1526), 2027–2045. https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0284

Thiyagarajan, V., & Ko, G. W. K. (2012). Larval growth response of the Portuguese oyster (Crassostrea angulata) to multiple climate change stressors. *Aquaculture*, *370–371*, 90–95. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.09.025

Ti ai Moana. (2019). Nettoyage , empaquetage et rapatriement à Tahiti et recyclage en filière existante des déchets perlicoles de Mangareva actuellement stockés sur le terrain de la commune de Mardi 18 décembre 2018 : 3 sites à évacuer : Baie de Gatavake . Baie de KIRIMIRO .

Tsekos, I. (1999). The sites of cellulose synthesis in algae: Diversity and evolution of cellulose-synthesizing enzyme complexes. *Journal of Phycology*, *35*(4), 635–655. https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.1999.3540635.x

Tsiola, A., Krasakopoulou, E., Daffonchio, D., Frangoulis, C., Tsagaraki, T. M., Fodelianakis, S., & Pitta, P. (2023). Responses of Free-Living Planktonic Bacterial Communities to Experimental Acidification and Warming. *Microorganisms*, *11*(2). https://doi.org/10.3390/microorganisms11020273

Tukey, J. W. (1949). Comparing individual means in the analysis of variance. *Biometrics*, *5*(2), 99–114.

Turner, J. T. (2015). Zooplankton fecal pellets, marine snow, phytodetritus and the ocean's biological

pump. *Progress in Oceanography*, *130*, 205–248. https://doi.org/10.1016/j.pocean.2014.08.005

Ulman, A., Ferrario, J., Occhpinti-Ambrogi, A., Arvanitidis, C., Bandi, A., Bertolino, M., Bogi, C., Chatzigeorgiou, G., Çiçek, B. A., Deidun, A., Ramos-Esplá, A., Koçak, C., Lorenti, M., Martinez-Laiz, G., Merlo, G., Princisgh, E., Scribano, G., & Marchini, A. (2017). A massive update of non-indigenous species records in Mediterranean marinas. *PeerJ*, *2017*(10), 1–59. https://doi.org/10.7717/peerj.3954

Van Franeker, J. A., & Law, K. L. (2015). Seabirds, gyres and global trends in plastic pollution. *Environmental Pollution*, *203*, 89–96. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.02.034

Van Metre, P. C., Alvarez, D. A., Mahler, B. J., Nowell, L., Sandstrom, M., & Moran, P. (2017). Complex mixtures of Pesticides in Midwest U.S. streams indicated by POCIS time-integrating samplers. *Environmental Pollution*, *220*, 431–440. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.09.085

Vandermeersch, G., Lourenço, H. M., Alvarez-Muñoz, D., Cunha, S., Diogène, J., Cano-Sancho, G., Sloth, J. J., Kwadijk, C., Barcelo, D., Allegaert, W., Bekaert, K., Fernandes, J. O., Marques, A., & Robbens, J. (2015). Environmental contaminants of emerging concern in seafood - European database on contaminant levels. *Environmental Research*, *143*, 29–45. https://doi.org/10.1016/j.envres.2015.06.011

Venkatarama Sharma, K., Kumar Sarvalingam, B., & Rudragouda Marigoudar, S. (2021). A review of mesocosm experiments on heavy metals in marine environment and related issues of emerging concerns. *Environmental Science and Pollution Research*, *28*, 1304–1316. https://doi.org/10.1007/s11356-020-11121-3

Verlis, K. M., & Wilson, S. P. (2020). Paradise Trashed: Sources and solutions to marine litter in a small island developing state. *Waste Management*, *103*, 128–136. https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.12.020

Viard, C. (2001). Contribution à l'étude de l'influence de la température sur la gamétogenèse de l'huître perlière *Pinctada margaritifera* (Linné, 1758) en conditionnement.

Vlaanderen, E. J., Ghaly, T. M., Moore, L. R., Focardi, A., Paulsen, I. T., & Tetu, S. G. (2023). Plastic leachate exposure drives antibiotic resistance and virulence in marine bacterial communities. *Environmental Pollution*, *327*(November 2022), 121558. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.121558

Von Moos, N., Burkhardt-Holm, P., & Köhler, A. (2012). Uptake and effects of microplastics on cells and tissue of the blue mussel *Mytilus edulis* L. after an experimental exposure. *Environmental Science and Technology*, *46*(20), 11327–11335. https://doi.org/10.1021/es302332w

Wagner, M., Monclús, L., Arp, H. P. H., Groh, K. J., Løseth, M. E., Muncke, J., Wang, Z., Wolf, R., & Zimmermann, L. (2024). State of the science on plastic chemicals - Identifying and addressing chemicals and polymers of concern. *PlastChem*, 181.

Waite, H. R., Donnelly, M. J., & Walters, L. J. (2018). Quantity and types of microplastics in the organic tissues of the eastern oyster *Crassostrea virginica* and Atlantic mud crab *Panopeus herbstii* from a Florida estuary. *Marine Pollution Bulletin*, *129*(1), 179–185. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.02.026

Waldbusser, G. G., Voigt, E. P., Bergschneider, H., Green, M. A., & Newell, R. I. E. (2011). Biocalcification in the Eastern Oyster (Crassostrea virginica) in Relation to Long-term Trends in Chesapeake Bay pH. *Estuaries and Coasts*, *34*(2), 221–231. https://doi.org/10.1007/s12237-010-9307-0

Wang, H., Liu, H., Zhang, Y., Zhang, L., Wang, Q., & Zhao, Y. (2023). The toxicity of microplastics and their leachates to embryonic development of the sea cucumber *Apostichopus japonicus*. *Marine Environmental Research*, *190*(June), 106114. https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2023.106114

Wang, J., Tan, Z., Peng, J., Qiu, Q., & Li, M. (2016). The behaviors of microplastics in the marine environment. *Marine Environmental Research*, *113*, 7–17. https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2015.10.014

Wang, W., Gao, H., Jin, S., Li, R., & Na, G. (2019). The ecotoxicological effects of microplastics on aquatic food web, from primary producer to human: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *173*(February), 110–117. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.01.113

Wang, Z., Song, L., Ye, N., Yu, Q., Zhai, Y., Zhang, F., Vijver, M. G., & Peijnenburg, W. J. G. M. (2020). Oxidative stress actuated by cellulose nanocrystals and nanofibrils in aquatic organisms of different trophic levels. *NanoImpact*, *17*(February). https://doi.org/10.1016/j.impact.2020.100211

Ward, J. E., Zhao, S., Holohan, B. A., Mladinich, K. M., Griffin, T. W., Wozniak, J., & Shumway, S.

E. (2019). Selective Ingestion and Egestion of Plastic Particles by the Blue Mussel (*Mytilus edulis*) and Eastern Oyster (Crassostrea virginica): Implications for Using Bivalves as Bioindicators of Microplastic Pollution. *Environmental Science and Technology*, *53*(15), 8776–8784. https://doi.org/10.1021/acs.est.9b02073

Wessel, N., Santos, R., Menard, D., Le Menach, K., Buchet, V., Lebayon, N., Loizeau, V., Burgeot, T., Budzinski, H., & Akcha, F. (2010). Relationship between PAH biotransformation as measured by biliary metabolites and EROD activity, and genotoxicity in juveniles of sole (Solea solea). *Marine Environmental Research*, *69*(SUPPL. 1), S71–S73. https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2010.03.004

Wilcoxon, F. (1945). Some uses of statistics in plant pathology. *Biometrics Bulletin*, *1*(4), 41–45.

Windsor, F. M., Durance, I., Horton, A. A., Thompson, R. C., Tyler, C. R., & Ormerod, S. J. (2019). A catchment-scale perspective of plastic pollution. *Global Change Biology*, *25*(4), 1207–1221. https://doi.org/10.1111/gcb.14572

Winnepennickx, B., Backeljau, T., & De Wachter, R. (1993). Technical tips: Extraction of high molecular weight DNA from molluscs. *Tig*, *9*(12), 407.

Witec. (2019). Automated Microparticle Analysis with Raman Microscopy. *Vogel Communications Group*. lab-worldwide.com/automated-microparticle-analysis-with-raman-microscopy-a-869915/

Wright, R. J., Erni-Cassola, G., Zadjelovic, V., Latva, M., & Christie-Oleza, J. A. (2020). Marine Plastic Debris: A New Surface for Microbial Colonization. *Environmental Science and Technology*, *54*(19), 11657–11672. https://doi.org/10.1021/acs.est.0c02305

Wright, S. L., Thompson, R. C., & Galloway, T. S. (2013). The physical impacts of microplastics on marine organisms: a review. *Environmental Pollution (Barking, Essex : 1987)*, *178*, 483–492. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.02.031

Wu, D., Feng, Y., Wang, R., Jiang, J., Guan, Q., Yang, X., Wei, H., Xia, Y., & Luo, Y. (2023). Pigment microparticles and microplastics found in human thrombi based on Raman spectral evidence. *Journal of Advanced Research*, *49*, 141–150. https://doi.org/10.1016/j.jare.2022.09.004

Xiong, X., Chen, X., Zhang, K., Mei, Z., Hao, Y., Zheng, J., Wu, C., Wang, K., Ruan, Y., Lam, P. K.

S., & Wang, D. (2018). Microplastics in the intestinal tracts of East Asian finless porpoises (Neophocaena asiaeorientalis sunameri) from Yellow Sea and Bohai Sea of China. *Marine Pollution Bulletin*, *136*(August), 55–60. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.09.006

Yang, Y., Liu, G., Song, W., Ye, C., Lin, H., Li, Z., & Liu, W. (2019). Plastics in the marine environment are reservoirs for antibiotic and metal resistance genes. *Environment International*, *123*(1), 79–86. https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.11.061

Yaqin, K., Syamsuriani, Umar, M. T., & Fachruddin, L. (2020). Zooxantella of Giant Clam as a sentinel organism to detect toxicity of lead. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, *564*(1). https://doi.org/10.1088/1755-1315/564/1/012033

Ye, G., Zhang, X., Yan, C., Lin, Y., & Huang, Q. (2021). Polystyrene microplastics induce microbial dysbiosis and dysfunction in surrounding seawater. *Environment International*, *156*, 106724. https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106724

Zalasiewicz, J., Waters, C. N., Ivar do Sul, J. A., Corcoran, P. L., Barnosky, A. D., Cearreta, A., Edgeworth, M., Gałuszka, A., Jeandel, C., Leinfelder, R., McNeill, J. R., Steffen, W., Summerhayes, C., Wagreich, M., Williams, M., Wolfe, A. P., & Yonan, Y. (2016). The geological cycle of plastics and their use as a stratigraphic indicator of the Anthropocene. *Anthropocene*, *13*, 4–17. https://doi.org/10.1016/j.ancene.2016.01.002

Zanini, J. M. (1999). Stocks naturels de nacres -*Pinctada margaritifera*- de polynesie francaise (Doctoral dissertation, Paris, EPHE).

Zettler, E. R., Mincer, T. J., & Amaral-Zettler, L. A. (2013). Life in the “plastisphere”: Microbial communities on plastic marine debris. *Environmental Science and Technology*, *47*(13), 7137–7146. https://doi.org/10.1021/es401288x

Zhang, J., Wang, L., Trasande, L., & Kannan, K. (2021). Occurrence of Polyethylene Terephthalate and Polycarbonate Microplastics in Infant and Adult Feces. *Environmental Science and Technology Letters*, *8*(11), 989–994. https://doi.org/10.1021/acs.estlett.1c00559

Zhang, K., Su, J., Xiong, X., Wu, X., Wu, C., & Liu, J. (2016). Microplastic pollution of lakeshore sediments from remote lakes in Tibet plateau, China. *Environmental Pollution*, *219*, 450–455. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.05.048

Zhang, L., Liu, X., & Zhang, C. (2023). Effect of PET microplastics on the growth, digestive enzymes, and intestinal flora of the sea cucumber *Apostichopus japonicus*. *Marine Environmental Research*, *190*(April), 106125. https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2023.106125

Zhang, Y., Lu, J., Wu, J., Wang, J., & Luo, Y. (2020). Potential risks of microplastics combined with superbugs: Enrichment of antibiotic resistant bacteria on the surface of microplastics in mariculture system. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *187*(September 2019), 109852. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109852

Zhang, Z., Chen, Q., Chen, B., Dong, T., & Chen, M. (2023). Toxic effects of pesticides on the marine microalga *Skeletonema costatum* and their biological degradation. *Science China Earth Sciences*, *66*(3), 663–674. https://doi.org/10.1007/s11430-022-1064-7

Zhou, J., Chen, B., & Cai, Z. (2015). Metabolomics-based approach for assessing the toxicity mechanisms of dibutyl phthalate to abalone (*Haliotis diversicolor supertexta*). *Environmental Science and Pollution Research*, *22*(7), 5092–5099. https://doi.org/10.1007/s11356-014-3859-7

Zimmermann, L., Dombrowski, A., Völker, C., & Wagner, M. (2020). Are bioplastics and plant-based materials safer than conventional plastics? *In vitro* toxicity and chemical composition. *Environment International*, *145*(June), 106066. https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.106066

Zink, T., & Geyer, R. (2019). Material Recycling and the Myth of Landfill Diversion. *Journal of Industrial Ecology*, *23*(3), 541–548. https://doi.org/10.1111/jiec.12808

Zylstra, E. R. (2013). Accumulation of wind-dispersed trash in desert environments. *Journal of Arid Environments*, *89*, 13–15. https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2012.10.004

7.2 WEBOGRAPHIE

ASEAN : https://perspective.usherbrooke.ca/bilan/servlet/BMAnalyse/636#:~:text=L'enjeu%20s%C3%A9curitaire%2C%20le%20d%C3%A9fi,(selon%20les%20Nations%20unies).

Analyse des matériaux pour l'assurance qualité et la dégradation des bioplastiques : https://www.tainstruments.com/material-analysis-for-bioplastics-quality-assurance-and-degradation/?lang=fr#:~:text=Les%20plastiques%20biod%C3%A9gradables%20peuvent%20%C3%AAtre,biomasse%20et%20des%20sels%20inorganiques.

Celluloïd : https://fr.wikipedia.org/wiki/Cellulo%C3%AFd

Charles Goodyear : https://fr.wikipedia.org/wiki/Charles_Goodyear#cite_note-cgoodyear10-2

Climat de la Polynésie française : https://meteo.pf/fr/climat#:~:text=La%20classification%20des%20climats%20repose,tropical%20de%20type%20maritime%20humide.

Culture du Coprah : https://comptoirdesmonoi.fr/filiere-coprah/#:~:text=La%20production%20annuelle%20varie%20de,l'archipel%20des%20Tuamotu%20Gambiers

Directive Cadre Stratégie pour le Milieu Marin : https://dcsmm.milieumarinfrance.fr/

DRM, Statistiques 2022 : La perliculture : https://www.ressources-marines.gov.pf/2023/06/12/statistiques-la-perliculture/

EN 13432 : des règles claires pour la compostabilité : https://www.labelprint24.com/fr/magazine/compostabilite-quelles-sont-les-lois-et-les-normes-en-vigueur-490

European Union : https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=LEGISSUM:eu_union

Fakarava – la précieuse écloserie : https://la1ere.francetvinfo.fr/polynesie/tahiti/polynesie-francaise/bleu-ocean-fakarava-la-precieuse-ecloserie-1279028.html

Guerre de Sécession : https://fr.wikipedia.org/wiki/Guerre_de_S%C3%A9cession

Le Caoutchouc : http://www.atomer.fr/1/1ac1.html

Les vases plastiques dans l'antiquité : https://www.jstor.org/stable/4389808?seq=2

Matière plastique : https://fr.wikipedia.org/wiki/Mati%C3%A8re_plastique#Annexes

OECD (2022) : https://ourworldindata.org/plastic-pollution

Perle de Tahiti : après une année 2023 record, une embellie de courte durée : https://la1ere.francetvinfo.fr/polynesie/tahiti/polynesie-francaise/perle-de-tahiti-apres-le-boom-le-naufrage-1478957.html

Points etudes et Bilans de la Polynésie française n°1206 : https://data.ispf.pf/docs/default-source/publi-pf-bilans-et-etudes/peb-07-2020-1206-bilan-perle-2018.pdf?sfvrsn=4

Propriété et application des polymères : https://www.products.pcc.eu/fr/blog/proprietes-et-applications-des-polymeres-ou-sont-utilises-les-plastiques/

Qu'est-ce qu'un élastomère : https://www.solutions-elastomeres.com/fr/content/28-qu-est-ce-qu-un-elastomere

Qu'est-ce qu'un polymère : https://polymerexpert.fr/polymere-definition/#:~:text=Ils%20sont%20obtenus%20par%20polym%C3%A9risation,colorant%2C%20charge%2C%E2%80%A6).

Rapport de ISPF, 2021 : https://www.ispf.pf/publication/1274

Rajaram et Onepe, 2022 : https://www.tainstruments.com/material-analysis-for-bioplastics-quality-assurance-and-degradation/?lang=fr#:~:text=Les%20plastiques%20biod%C3%A9gradables%20peuvent%20%C3%AAtre,biomasse%20et%20des%20sels%20inorganiques.

Stratégie pour le milieu marin : https://eur-lex.europa.eu/FR/legal-content/summary/strategy-for-the-marine-environment.html

The Codex Borgia : https://books.google.com/books?id=JfbDAgAAQBAJ&newbks=0

Winfield Scott : https://fr.wikipedia.org/wiki/Winfield_Scott

RECHERCHE D'ESPECES BIOINDICATRICES DE LA POLLUTION PLASTIQUE DANS UN CONTEXTE PERLICOLE EN POLYNESIE FRANÇAISE

La renommée de la perle de culture polynésienne a depuis longtemps traversé les frontières du pays. Ce secteur rapporte chaque année des milliards de francs Pacifique et représente la deuxième ressource économique de la Polynésie française. Cependant, depuis les années 90, les perliculteurs ont délaissé les matériaux naturels au profit d'une matière plus résistante : le plastique. L'utilisation massive de plastiques, couplée à une gestion défaillante des déchets, a conduit peu à peu à l'amoncellement de quantités importantes de déchets dans les lagons perlicoles. En laboratoire, de précédentes études ont montré l'impact négatif des plastiques perlicoles sur les huîtres perlières, *Pinctada margaritifera*, et *in fine* sur les perles. Si aucune mesure n'est prise en conséquence, la perliculture pourrait bien précipiter sa propre chute. Afin de déterminer les seuils de pollution de plastiques perlicoles néfastes pour les écosystèmes marins tropicaux, nous avons imaginé plusieurs approches. Les expériences réalisées prenaient en compte à la fois les contraintes chimiques, biologiques et physiques induites par la présence de plastiques dans le milieu marin. Ainsi, nous avons développé des approches toxicologiques sur des espèces tropicales dont certaines n'avaient jusqu'alors pas été étudiées dans cette thématique. Nous avons également réalisé des expérimentations en mésocosmes afin de suivre les modifications induites par l'augmentation des concentrations de plastiques sur le compartiment bactérien. Enfin, nous avons évalué le potentiel de *Pinctada margaritifera* comme espèce bioindicatrice de l'état de contamination des lagons en microplastiques en suivant pendant plus de six mois 1 200 huîtres dans quatre atolls. L'ensemble de ces résultats nous a permis, dans un premier temps, de mettre en lumière les effets des plastiques sur des espèces tropicales peu étudiées ainsi que sur les bactéries marines, puis, dans un second temps, de proposer certaines de ces espèces comme des candidates bioindicatrices de la pollution plastique des milieux marins tropicaux.

***Mots clés** : Perliculture, Plastique, Espèces bioindicatrices, Toxicologie*

SEARCH FOR BIOINDICATOR SPECIES OF PLASTIC POLLUTION IN A PEARL FARMING CONTEXT IN FRENCH POLYNESIA

The fame of Polynesian cultured pearls has long crossed the country's borders. This sector generates billions of Pacific francs annually and represents the second-largest economic resource of French Polynesia. However, since the 1990s, pearl farmers have abandoned natural materials in favor of a more durable one: plastic. The massive use of plastics, coupled with poor waste management, has gradually led to the accumulation of significant amounts of marine litter in the pearl farming lagoons. In the laboratory, previous studies have shown the negative impact of pearl farming plastics on pearl oysters, *Pinctada margaritifera*, and ultimately on the pearls. If no measures are taken, pearl farming may well bring about its own downfall. To determine the harmful thresholds of pearl farming plastic pollution for tropical marine ecosystems, we developed several approaches. The experiments considered the chemical, biological, and physical constraints induced by the presence of plastics in the marine environment. Thus, we developed toxicological approaches on tropical species, some of which had not previously been studied in this context. We also conducted mesocosm experiments to track the changes induced by increasing plastic concentrations on the bacterial compartment. Finally, we evaluated the potential of *Pinctada margaritifera* as a bioindicator species of microplastic contamination in lagoons by monitoring 1 200 oysters across four atolls over more than six months. These results allowed us, firstly, to highlight the effects of plastics on under-studied tropical species as well as on marine bacteria, and secondly, to propose some of these species as candidate bioindicators of plastic pollution in tropical marine environments.

***Key words** : Pearl farming, Plastics, Bioindicator species, Toxicology*